N° ordre 3

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II

pour obtenir le grade

de

Docteur ès-Sciences Naturelles

par

J.-J. BERJON

Licencié ès-Sciences

Docteur en Biologie animale

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HISTOGÉNÈSE DES STRUCTURES INSULINO-SECRETANTES DU PANCREAS

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE CHEZ LE RAT PAR LA MÉTHODE DES GREFFES ET EN CULTURE

---

soutenue le 19 juillet 1973 devant la commission d'examen.

M. A. BARETS	*Professeur*	*Président*
M^me^ F. DIETERLEN	*Maître de recherches au C.N.R.S.*	*Examinateurs*
M. J.-M. MEUNIER	*Professeur*	
M. Ch. BRETON	*Professeur à l'Université de Limoges*	

— 1973 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Monsieur le Professeur BARETS a bien voulu présider le Jury de cette thèse.

Qu'il me soit permis de l'en remercier et de lui exprimer ma très respectueuse considération.

Madame DIETERLEN a accepté avec la plus diligente bienveillance d'examiner ce mémoire en vue de sa soutenance. Ses travaux peuvent être pris comme modèle.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma très respectueuse admiration.

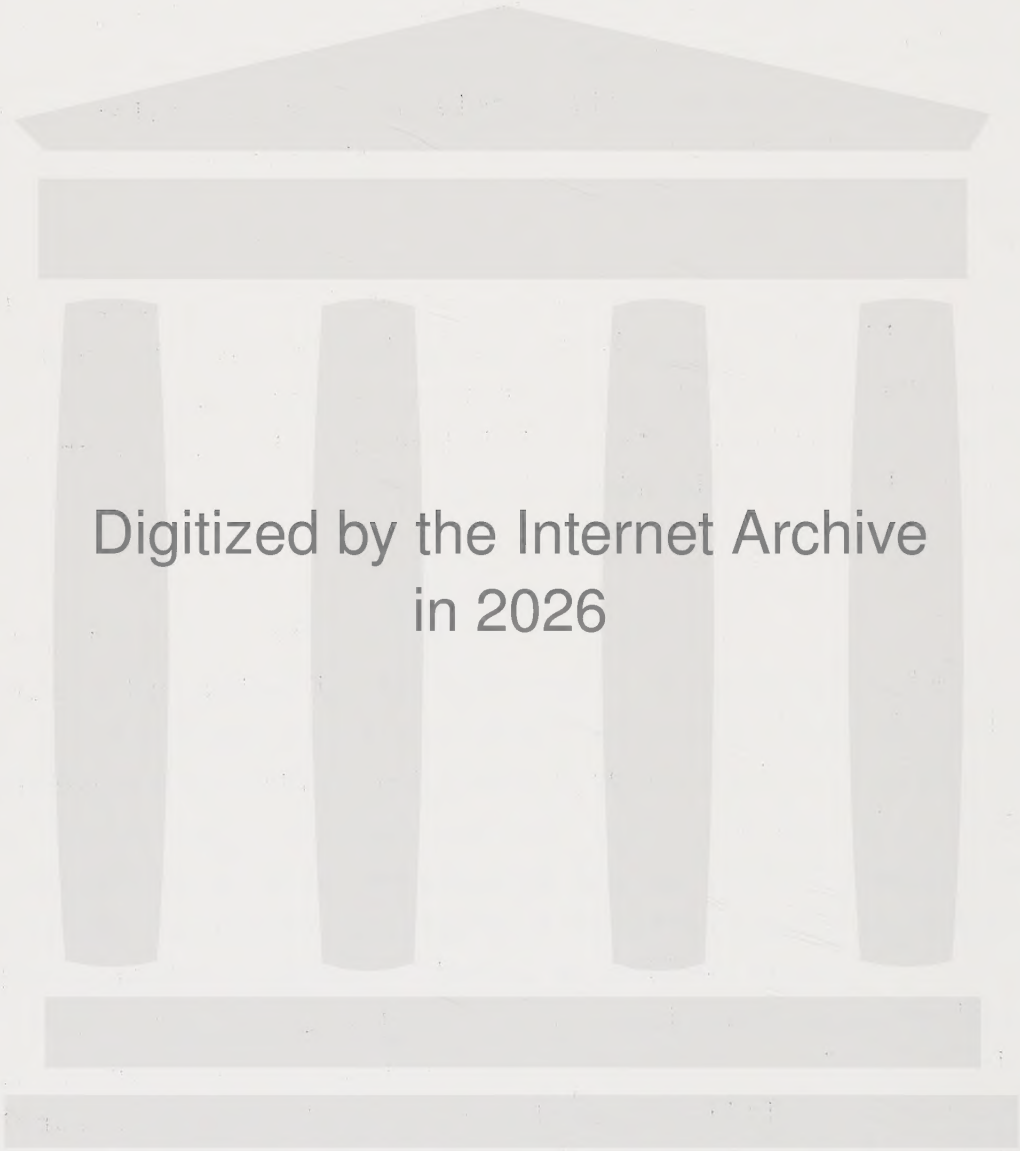
Monsieur le Professeur BRETON a très aimablement accepté de juger ce travail encore bien incomplet sur le plan biochimique.

Qu'il me permette de lui affirmer ma profonde reconnaissance.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Histologie et Embryologie de l'Université de BORDEAUX II, sous la direction incomparable de Monsieur le Professeur MEUNIER qui m'a accueilli voici dix ans dans le cadre du Service du Professeur MAYER, et qui m'a permis de plus d'utiliser les locaux du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital XAVIER-ARNOZAN.

Qu'il trouve en cette occasion l'expression de ma très sincère gratitude.

Je prie Monsieur le Président BRICAUD d'accepter l'expression de mon dévouement et de ma reconnaissance.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547315_0002

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION Page 1

- Diabètes et pancréas
- Le pancréas endocrine : rappel morphologique et histogénétique
  - . structure des îlôts de LANGERHANS
  - . caractères cytologiques des îlôts de LANGERHANS
  - . organogénèse pancréatique
- Position du problème

MATERIEL ET METHODES Page 14

- Les animaux utilisés
- Les greffes de pancréas
- Les cultures de pancréas
- La pancréatectomie
- Les techniques histologiques

CHAPITRE I Page 22

Evolution de l'insulogénèse ectopique : pancréas adulte

- . homogreffes de pancréas
- . autogreffes de pancréas
- . action de variations hormonales et métaboliques

CHAPITRE II Page 32

Evolution de l'insulogénèse ectopique : pancréas foetal

- . évolution en fonction du stade de l'ébauche
- . action de variations hormonales et métaboliques

CHAPITRE III Page 40

Culture organotypique d'ébauches pancréatiques

. évolution en fonction du stade de l'ébauche

. évolution selon le milieu de culture

. action de facteurs hormonaux et métaboliques

CHAPITRE IV Page 51

Evolution d'ébauches pancréatiques greffées chez l'animal adulte après culture organotypique

. caractères morphologiques des greffons

. caractères fonctionnels des greffons

DISCUSSION DES RESULTATS Page 56

RESUME Page 66

BIBLIOGRAPHIE Page 67

°

° °

I N T R O D U C T I O N

DIABETES ET PANCREAS

Le terme de diabète désigne, depuis que le mot fut créé par ARETEE de CAPPADOCE à la fin du 1er siècle, des syndromes très divers, caractérisés notamment par une augmentation parfois considérable du flux urinaire. La première observation précise est due à WILLIS 1673 (132). Il décrit sous le nom de "diabètes anglicus" puis de "diabètes mellitus" ce que nous connaissons aujourd'hui sous le nom de diabète sucré.

Un siècle plus tard, en 1772, SAUVAGE publie à LYON une "Nosologie méthodique ou distribution des maladies en classes, en genres et en espèces suivant la méthode des Botanistes" (116). Il y établit la liste des maladies évacuatrices dont les diabètes occupent la 9ème classe appartenant au 3ème ordre des flux séreux. Il y individualise 7 "espèces" de diabètes parmi lesquels, en 1787, CULLEN (39) définit l'existence de deux formes de la maladie, le diabète insipide et le diabète sucré. A la même époque, CAWLEY 1788 (33) décrit la concomitance de lésions pancréatiques et de l'évolution du diabète qu'il attribue cependant à un mécanisme rénal, alors que PINEL en 1798 (108) n'en précise pas le mode d'apparition. Cette incertitude persiste jusqu'en 1873 (cf. ROLLO 1798 (114), NICOLAS et GUEUDEVILLE 1803 (102), RAYER 1839 (110), BENNETT 1873 (16)), alors que dès 1849 dans sa première leçon, Claude BERNARD (21)

a décrit "le diabète sucré comme un trouble de la nutrition... caractérisé par l'élimination plus ou moins considérable de matière sucrée". Dans sa dernière leçon, il pensait pouvoir énoncer que "ce système était étroitement lié" à la fonction glycogénique du foie, ceci bien qu'il ait, au cours de ses communications à l'Académie des Sciences, de 1848 à 1877, attiré à plusieurs reprises l'attention sur l'importance des lésions expérimentales du 4ème ventricule (1849) (21) ; (1850) (22,23) dans l'apparition des polyuries sucrées.

C'est au cours de la même période que LANCEREAUX 1877 (83) d'une part, VON MEHRING et MINKOWSKI 1889 (96) d'autre part, établissent par des méthodes convergentes le rôle du pancréas au cours de l'évolution du diabète. L'ablation de l'organe chez le chien reproduit les troubles observés chez l'homme. HEDON en 1892 (60) greffe des fragments de glande sous la peau : il rétablit le métabolisme glucidique, élimine de ce fait la possibilité d'un contrôle nerveux de la glycosurie.

A la suite des théories de BROWN-SEQUARD 1889 (28) (29) sur les sécrétions internes, les expériences de LEPINE et BARRAL 1891 (86) permettent d'envisager l'origine pancréatique d'un "ferment glycolytique". Plusieurs auteurs extraient ensuite du pancréas ce principe capable de guérir le diabète expérimental (cf. MONTUORI 1895 (98), SCOTT 1912 (118), D'AMBARD 1919 (5), CHABANIER 1920 (34), ACHARD, RIBOT et BINET 1919 (4)).

L'expérience fondamentale, demeurée non publiée de 1905 à 1922, est due à GLEY (57). La destruction élective du pancréas exocrine permet de préparer un extrait à partir des îlôts de Langerhans et de suspendre par son administration chez le chien l'évolution du diabète expérimental.

BANTING et BEST (12) préparent à partir de 1922 des extraits aqueux puis alcooliques de pancréas adulte ou foetal. C'est à partir de tels extraits que ABELL et Coll. 1927 (1) (2) isolent l'hormone décrite sous le nom d'insuline. La source

de cette substance est identifiée de façon précise à partir de 1943. Les expériences de DUNN et Coll. (17) ont permis de détruire électivement les cellules hormonogènes par injection d'Alloxane et de créer un diabète expérimental.

LE PANCREAS ENDOCRINE

RAPPEL MORPHOLOGIQUE ET HISTOGENETIQUE

Chez tous les mammifères, les structures endocrines du Pancréas -Ilôts de LANGERHANS- présentent des caractères d'organisation et des caractères cytologiques comparables. Leur étude, inaugurée en 1869 par LANGERHANS (85) a permis d'établir leurs caractères de structure, la morphologie de leurs types cellulaires, leur aspect ultrastructural et les propriétés cytochimiques qui correspondent aux caractères fonctionnels des cellules qui les constituent.

ORGANISATION ET STRUCTURE DES ILOTS DE LANGERHANS

Répartis de façon très irrégulière au sein du parenchyme exocrine dont ils constituent la centième partie environ, les Ilôts de LANGERHANS sont -chez la plupart des mammifères- des formations arrondies. Chez le rat, les Ilôts sont nettement séparés du parenchyme exocrine par des formations conjonctives. Chaque Ilôt a une organisation trabéculaire irrégulière ou réticulaire. Autour de capillaires sinusoïdes, on observe des cordons épithéliaux hétérogènes parce qu'ils résultent de l'association de cellules différentes. Les Ilôts sont très richement innervés et plusieurs auteurs, GENTES 1902, notamment VAN CAMPENHOUT 1927 (30), pensent que des fibres amyéliniques sympathiques à destinée vasculaire s'ajoutent à des fibres parasympathiques qui se

distribuent aux cellules endocrines. Dans certaines espèces -et notamment chez l'homme- les îlôts contiennent des cellules nerveuses végétatives qui constituent avec les cellules glandulaires les complexes sympathico-insulaires de VAN CAMPENHOUT ; chez le rat, les mêmes structures ont été décrites par COUPLAND (38) 1958, FUJITA (51) 1959, THERET (123) 1961.

CARACTERES CYTOLOGIQUES DES ILOTS DE LANGERHANS

Les techniques classiques de l'histologie avaient permis à LAGUESSE 1906 (80) de distinguer dans les îlôts des cellules différentes par leur forme et leurs dimensions : 6 microns pour les unes, à 20 microns pour les autres en moyenne.

La même année, LANE (84) décrit des cellules A et des cellules B qui peuvent être distinguées d'après les affinités tinctoriales de leurs granulations cytoplasmiques. Les cellules A, rares, plus grandes que les autres, colorées par la Gentiane neutre de Bensley après fixation au Formol ou à l'alcool, contiennent des grains petits, colorés en violet. Les cellules B, de taille réduite, représentent la majorité des éléments endocrines et apparaissent en jaune sur les mêmes préparations : après fixation par le sublimé ou par les mélanges bichromate-sublimé, ces cellules sont criblées de petits grains violets. Les grains A sont solubles dans l'acide acétique, les grains B sont solubles dans l'alcool.

A la suite des travaux de BARGMANN 1949 (13) (14) et du développement des techniques cytochimiques, plusieurs types cellulaires ont été mis en évidence. Certaines existent dans toutes les espèces, les cellules A . B . D . : d'autres, les cellules C . E . F . sont caractéristiques de certaines espèces seulement. On trouve dans les travaux de HELLMANN et HELLERSTROM 1960, 1961 (62) (63) (64) (65) les caractères des cellules A, dans la publication de BLOOM

1931 (27) la description des cellules D, alors que les cellules C ont été décrites initialement par BENSLEY 1911 et 1915 (17) (18) puis par THOMAS 1937 (124). Les deux derniers types cellulaires E et F ont été individualisés par THOMAS 1937 (124), par WOLTER en 1950 (136), par MUNGER, CARAMIA et LACY 1965 (101) mais assimilés ultérieurement aux cellules A par HELLMANN et HELLERSTROM en 1962 (64.65).

Parmi ces éléments, les cellules B, petites, sont les plus nombreuses dans les îlôts. Elles sont caractérisées par des granulations fines, colorables en noir par l'Hématoxyline chromique et en violet par la fuschine-paraldéhyde. Elles sont formées de protéines riches en soufre, mises en évidence par la réaction de BARNETT 1955 (15). Ces granulations, solubles dans l'alcool, sont disposées autour d'un noyau dont la chromatine est condensée en mottes : ce noyau peut contenir 3 à 5 nucléoles.

Toutes les notions acquises en microscopie photonique ont été développées et précisées en microscopie électronique. On trouve dans le traité de GANTER et JOLLES 1970 (53), dans le travail de SATO, HERMAN et FITZGERALD (115) l'ensemble des données acquises dans ce domaine depuis 1956. Dans les cellules B, notamment chez le rat, on observe des granulations d'un diamètre de 2 000 microns environ. Ces inclusions sont parfois hétérogènes.

CARACTERES CYTOPHYSIOLOGIQUES DES ILOTS DE LANGERHANS

Le terme de cytophysiologie doit être accepté dans son sens le plus large : il désigne non seulement le rôle et le mode d'activité, mais encore le mode de différenciation. Ces deux séries de problèmes ont été étroitement intriqués tout au long des études effectuées sur le pancréas.

Le rôle global des îlôts de LANGERHANS a été établi par les expériences de VON MEHRING et MINKOWSKI 1889 (96), de HEDON 1892 (60), de LAGUESSE 1893 (78) et confirmé par

SSOBOLEV 1901, 1902 (121). Le rôle respectif des variétés cellulaires a été précisé tout d'abord grâce à leur destruction élective.

L'injection d'Alloxane a permis à DUNN, SHEEHAN, MAC LETCHI en 1943 (47) d'obtenir chez le rat la destruction élective des cellules B et d'observer ensuite l'apparition d'un diabète sucré. On pouvait en conclure que l'insuline extraite par BANTING et BEST (12) 1922, était élaborée au niveau des cellules B. De nombreux travaux ont confirmé ce fait chez différentes espèces (cf. MALLAISSE 1972) (91) et mis en évidence que les caractères cytochimiques des cellules B correspondent à la présence des constituants aminés de l'insuline (BARNETT et SELIGMAN 1955 (15)).

D'autres substances -et notamment l'acide urique, l'acide déhydro-ascorbique, la streptozotocine- ont la même action cytotoxique élective sur les cellules B et une activité diabétogène (cf. MALAISSE 1972 (91)).

A l'inverse, pour détruire les cellules A, on peut utiliser l'amanitine (cf. VERNE chez le rat en 1949 (127), les sels de cobalt (cf. VUYLSTEK et de DUWE 1953 (128)), les sels de nickel (MORELLE (100) 1953), les sels de cadmium à dose élevée (VAN CAMPENHOUT 1956 (31)). On provoque ainsi une dégranulation des cellules A. Dans ces conditions, les animaux sont hypoglycémiques et l'on attribue ce fait à la carence fonctionnelle des cellules qui ne libèrent plus le glucagon - isolé par STAUB, SINN et BEHRENS 1955 (122) et considéré comme une substance antagoniste de l'insuline.

Ces faits ont été corroborés par les constatations d'ordre pathologique et d'ordre pharmacologique. Les adénomes langerhansiens à cellules B sont des tumeurs hypoglycémiantes (cf. GIROD (55)). Les adénomes à cellules A sont des tumeurs hyperglycémiantes.

Différentes substances, appartenant au groupe des sulfamides classés comme hypoglycémiants, stimulent selon les constatations effectuées par JAMBON et Coll. 1942 (69) (70), par LOUBATIERES 1942 (89), l'insulinogénèse au niveau des cellules B (cf. analyse de l'action /B cytotrope des sulfamides hypoglycémiants - LOUBATIERES 1960 (88)).

Dans la plupart des espèces, ces caractères morphologiques et fonctionnels apparaissent au terme de l'histogénèse et de l'organogénèse pancréatique étudiées sur le plan morphologique et expérimental.

LES ETUDES MORPHOLOGIQUES DE L'ORGANOGENESE PANCREATIQUE

Le travail fondamental est dû à LAGUESSE 1893, 1894 (78) (79). Il a été effectué chez le mouton et a servi de point de départ à toutes les recherches réalisées ultérieurement chez des espèces différentes.

- Observations de LAGUESSE chez le mouton

Cinq stades évolutifs peuvent être distingués.

Le premier stade est caractérisé par l'apparition chez l'embryon long de 4 mm de deux diverticules de la paroi épithéliale de l'ébauche intestinale. L'un des diverticules est dorsal ; il apparaît le premier ; il est à l'origine du canal de SANTORINI. L'autre diverticule apparaît un peu plus tard : c'est une ébauche double qui dérive de la portion inférieure du bourgeon hépatique. Cette ébauche va donner le canal de WIRSUNG qui, dans la majorité des cas, fusionne avec la canal de SANTORINI. L'ensemble de la structure est à ce stade constitué par un épithélium prismatique simple.

Le deuxième stade résulte d'une prolifération de la paroi des diverticules : des cordons épithéliaux irréguliers et variqueux formés de cellules polyédriques, s'accolent, fusionnent éventuellement pour constituer un réseau analogue à celui de l'ébauche hépatique. A ce stade, LAGUESSE distingue dans les cordons pancréatiques deux types cellulaires, des

"cellules claires" et des "cellules troubles", auxquels il attribue des caractères évolutifs différents. Il considère les cellules troubles comme les éléments souches pour le pancréas endocrine.

Le troisième stade est caractérisé chez l'embryon de 18 mm par l'apparition de tubes épithéliaux qui s'édifient aux dépens des cordons cellulaires. En même temps, les cellules troubles prolifèrent et constituent des amas parfois très volumineux, ce sont les îlôts de LANGERHANS primaires.

Au quatrième stade, dans l'embryon de 65 mm, les tubes pancréatiques se développent : ils bourgeonnent le long de leur trajet et au niveau de leur extrêmité et donnent ainsi naissance aux ébauches des unités exocrines du pancréas.

Le cinquième stade est caractérisé par l'apparition de l'organisation tubulo-acineuse définitive et la disparition des îlôts de LANGERHANS primaires. LAGUESSE a pu observer des signes d'élimination par voie exocrine du produit de la fonte de ces îlôts. C'est au cours de ce cinquième stade -90 mm chez l'embryon de mouton- que se constituent les îlôts de LANGERHANS secondaires ou définitifs à partir des parois exocrines.

M. ARON précise les données ainsi acquises grâce à une étude d'embryologie comparée 1922 (7).

- Observations de ARON chez le mouton, le cobaye et le porc

Chez le mouton, ARON confirme l'existence des îlôts primaires et secondaires dont il définit les caractères d'organisation et les caractères cytologiques : il met en évidence l'existence d'un troisième type d'îlôts qui apparaît plus tardivement au cours du développement foetal (stade de

190 mm). Ces îlôts de troisième génération sont petits et peu vascularisés : leurs cellules ont un cytoplasme réduit, un noyau chromophile : on peut y mettre en évidence les caractères cytophysiologiques des îlôts de l'adulte. ARON individualise sous le nom d'îlôts de LAGUESSE les formations primaires et secondaires et réserve aux îlôts de troisième génération le terme d'îlôts de LANGERHANS.

Chez le cobaye, dans le cadre d'une organogénèse pancréatique analogue, l'apparition des "îlôts de LAGUESSE" est plus tardive : ils ne dégénèrent jamais : ce sont eux qui se transforment en îlôts définitifs.

Chez le porc, l'histogénèse du pancréas endocrine est particulière si on la compare à ce qui se passe dans les deux espèces précédentes. Elle est tardive, 80ème jour environ, on n'observe pas la formation d'îlôts primaires : les structures exocrines libèrent des cellules qui prolifèrent pour constituer des "îlôts de LAGUESSE" qui donnent naissance aux îlôts de LANGERHANS définitifs. Certains îlôts peuvent naître d'autre part et simultanément aux dépens d'acini.

ARON a étendu ces observations au lapin, au bovidé et à l'homme (10) 1931.

On trouvera dans les travaux inaugurés par RENAUT 1899 (111.112) et dûs ensuite à de nombreux auteurs, notamment LAGUESSE (80), WEBER (126) 1903, PEARCE (105) 1903, KUSTER (74) 1904, WEICHSELBAUM et KYRLE (130) 1909, MIRONESCU (99) 1910, ARON (7) 1922 ; ultérieurement, KARDASEVITCH (72) 1927, BARGMANN (13.14) 1939, FERNER et Coll. (49) 1950, ITO (68) 1962, JIRASEK (71) 1965, BJORKMANN (26) 1966, les données concernant le moment de l'apparition des structures pancréatiques endocrines et l'évolution de leurs caractères cytologiques.

- Observations chez le rat

Chez le rat blanc, l'histogénèse et l'organogénèse

pancréatique ont été étudiées notamment par CAPUANO (32) en 1971 et son travail rapporte les recherches antérieurement effectuées dans ce domaine par DEBEYRE (42) 1904-1909.

CAPUANO a étudié des coupes sériées d'embryons de rats et de foetus dont l'âge a varié du 10ème au 21ème jour de la grossesse et il a pu reconstruire suivant la technique de BORN la région duodéno-pancréatique d'embryons âgés de 10 à 15 jours et demi.

Il a mis en évidence que les bourgeons pancréatiques apparaissent le 11ème jour aux dépens de diverticules endodermiques contigus à l'ébauche gastrique. Il existe trois ébauches -comme dans l'espèce humaine-. L'ébauche dorsale apparaît au stade de 23-25 somites ; l'ébauche ventrale, 12 heures plus tard au stade de 29 à 30 somites (cf. SPONNER et Coll. 1970 (119)). Il existe également une ébauche ventrale accessoire qui apparaît la dernière : elle se développe pendant 48 heures et disparaît au 17ème jour et demi. La fusion des deux ébauches principales commence au 15ème jour et se termine à la naissance.

Ces constatations s'ajoutent aux notions d'ordre cytologique établies par PERRIER 1970 (106) notamment à la suite des travaux de HARD (59) 1944, LACY (75) 1957, HELLMANN (61) 1965, 1966, ORCI et Coll. (103) 1969, PERRIER, JACQUOT et Coll. (107) 1969. De l'ensemble de ces études, on peut conclure que des cellules endocrines "immatures" sont, au 16ème jour de la grossesse, dispersées au sein des ébauches exocrines à peine différenciées. Au 18ème jour, ces cellules constituent de petits îlôts endocrines dont l'organisation s'établit définitivement au 20ème jour de la grossesse en même temps qu'apparaît nettement leur dualité cytologique.

- Etude expérimentale du développement des îlôts de LANGERHANS

Ces constatations d'ordre morphologique ont été

complétées par des recherches expérimentales développées par LAGUESSE qui, selon le mot de ses maîtres, voulait établir "l'histogénie du pancréas endocrine" pour en comprendre le rôle. A la suite des travaux de MANKOWSKI 1900 (92) de DALE 1905 (40) qui avaient étudié le pancréas d'animaux soumis à des injections de sécrétine ou de glucose, LAGUESSE en 1911 (81) étudie la pancréas d'animaux soumis à l'inanition. Il croyait pouvoir affirmer que le nombre d'îlôts doublait pendant la période d'inanition pour revenir à la normale dès la reprise de l'alimentation. Il en concluait que les îlôts en surnombre apparaissaient à partir du parenchyme exocrine et pouvaient subir la transformations inverse.

A la suite des travaux de LAGUESSE (81), ARON (8,9) 1928 a montré que chez les amphibiens, on observe une concomitance entre la métamorphose, l'apparition des îlôts de LANGERHANS et l'apparition de la fonction glycogénique du foie. ARON admet que l'hypophyse larvaire embryonnaire ou foetale stimule l'activité de la glande thyroïde qui déclenche à son tour l'insulogénèse pancréatique.

Ces résultats n'ont pas été confirmés par les recherches de DIETERLEN LIEVRE 1965 (44) effectuées chez l'embryon de poulet. In vivo et in vitro, elle n'a pu mettre en évidence une telle série de processus.

Les études récentes effectuées par GIROD et CZYBA chez le singe (56) 1965, par FREXINOS et BUJAT sur les caractères cytologiques au cours des pancréatites humaines (50) 1972 permettent d'envisager l'existence de cellules mixtes : elles peuvent être considérées comme des intermédiaires acino-insulaires. Leur existence est compatible avec les notions de "néogénèse" et de "rétrogénèse" insulaire qui découlent de la théorie de LAGUESSE.

De l'ensemble des études ainsi rapportées sur l'histogénèse du pancréas endocrine, il convient de souligner pour

conclure combien demeure vraie la pensée de LAGUESSE selon laquelle "il faudrait pouvoir démontrer expérimentalement la formation de nombreux ilôts aux dépens du parenchyme exocrine puis leur disparition par une nouvelle transformation en acini". Tel a été le premier objet des recherches rapportées ci-après.

POSITION DU PROBLEME

Les résultats présentés par les différents auteurs cités ne permettent pas de répondre de façon précise à la question de savoir comment se constituent et se différencient, dans l'ébauche pancréatique, les structures endocrines. Ils ne permettent pas non plus d'établir les conditions dans lesquelles les ilôts de LANGERHANS persistent, se développent ou sont regénérés durant toute la vie de l'individu.ù

Dans l'état actuel de nos connaissances, la théorie du balancement acino-insulaire, émise par LAGUESSE (81) 1911, a servi de fondement à notre étude..

Deux questions peuvent être soumises à vérification expérimentale.

1° - Les cellules exocrines différenciées ou en cours de différenciation sont-elles capables, et dans quelles conditions, de donner naissance à des cellules endocrines ?

2° - Quelles sont les conditions dans lesquelles les cellules épithéliales de l'ébauche indifférenciée sont capables de donner naissance à des formations endocrines ?

Dans un cas comme dans l'autre, l'apparition du

tissu endocrine peut résulter soit de potentialités propres aux cellules pancréatiques qui évoluent de façon autonome, soit de l'intervention d'un facteur extraglandulaire qui règle l'insulogénèse au niveau de l'ébauche ou du parenchyme définitif.

Pour répondre à ces questions, nous avons étudié par la technique de greffe chez l'animal adulte d'une part, de culture in vitro d'autre part, le devenir de cellules pancréatiques différenciées ou non.

Les techniques expérimentales que nous avons utilisées permettent d'aborder le problème fondamental concernant le pancréas endocrine et par conséquent le diabète sucré pancréatique et son traitement. Ce problème est de savoir comment déclencher et contrôler l'histogénèse des îlôts de LANGERHANS soit au sein du pancréas en place soit au sein de greffes non antigéniques et actives.

°

° °

MATERIEL ET METHODES

Les recherches entreprises ont été effectuées chez le rat pour les raisons suivantes. Dans cette espèces, lorsque les conditions d'élevage sont constantes, le cycle ovarien est très régulier (EVERETT 1954 (48)). Le fait que l'ovulation soit à peu près parfaitement cyclique permet de dater la grossesse de façon précise grâce à la constatation du bouchon vaginal : on peut, dans ces conditions, utiliser des foetus arrivés au même stade de leur évolution, si l'on opère à la même heure chaque jour. Le jour de constatation du bouchon vaginal est compté comme jour un de la grossesse.

Au cours de nos expériences, les animaux utilisés appartenaient tous à la même souche d'origine WISTAR entretenue au Laboratoire depuis 1966 en lignée consanguine à partir d'un seul couple. Ces animaux ont été maintenus à 24-26°, soumis à un éclairement régulier de 12 heures par nycthémère. Ils ont reçu une alimentation équilibrée de qualité constante composée à partir de blé, d'arachide, de soja cuit, de poisson, de sang, de levure, de lait, de sucre et de graisses. Ce complexe est supplémenté en sels minéraux (formule U.A.R.) et enrichi en vitamines.

Pour 100 kg d'aliments, on trouve : eau libre 13 %, matières cellulosiques 3,5 %, matières minérales 8 %, protéines 22 % et matières grasses 4 % au minimum. La teneur en vitamines et en facteurs indispensables est la suivante :

Vit. A	1 700 000 u.i.	Vit. E	4 000 mg
Vit. D_3	500 000 u.i.	Vit. K	450 mg
Vit. B_1	120 mg	acide nicotinique	3 000 mg
Vit. B_2	900 mg	choline	54 600 mg
Vit. B_6	100 mg	Pantothénate de Calcium	600 mg
Vit. B_{12}	3 mg		

Cette alimentation permet -dans nos conditions d'élevage- d'éviter toute supplémentation en aliments frais. La dose quotidienne par animal adulte est approximativement de 30 grammes. L'eau est fournie à satiété.

Dans ces conditions, la prise de poids des animaux ayant atteint 120 g est de 44 % en 12 jours. Chaque portée compte en moyenne 11 petits. Ces caractères vérifiés sur plusieurs générations permettent de considérer la souche comme stable.

Nous avons utilisé des animaux dont le poids a varié -selon les séries expérimentales- de 90 à 380 grammes. Au total, 350 animaux ont été étudiés dans nos expériences soit comme porteurs de greffes soit comme témoins.

LES GREFFES DE PANCREAS

La greffe d'organe est une des techniques fondamentales en endocrinologie expérimentale, MANTEGAZZA 1860 (93), P. BERT 1864 (25), HEDON (60) et MINKOWSKI 1892 (96), MAY 1932 (94), 1952 (95). Celles-ci ont été ainsi réalisées :

a) à l'aide de parenchyme glandulaire adulte,

b) à l'aide d'ébauches glandulaires implantées aussitôt après leur prélèvement (greffes brephoplastiques de MAY) ou après culture organotypique in vitro (cf. GAILLARD 1937 (73), 1942 (cf. 52)).

Dans nos expériences, deux grands types de greffes

ont été réalisées suivant diverses variantes expérimentales, des autogreffes et des homogreffes qui ont toutes été implantées chez l'animal adulte jeune sous la capsule du rein. La technique opératoire a été la suivante.

Les animaux laissés à jeûn pendant 20 heures sont anesthésiés par une injection intrapéritonéale de Bromo-éthanol en solution aqueuse. Un millilitre d'une solution au 1/40 permet d'anesthésier un rat de 100 g.

Une incision oblique, latéro-dorsale, placée à mi-distance entre l'épine iliaque et le bord inférieur du gril costal permet de découvrir le plan musculaire, puis la loge rénale. Le rein est extériorisé grâce à une traction exercée sur les éléments conjonctifs et adipeux qui recouvrent son pôle inférieur : il est fixé à la surface de l'incision. La capsule rénale soulevée à l'aide d'une très fine pince à griffes est incisée sur une longueur de 3 mm au tiers supérieur de l'organe, dans sa région postérieure et dorsale. A l'aide d'une spatule mousse, la capsule conjonctive est décollée du parenchyme de l'organe, jusqu'au niveau du tiers inférieur, dans la zone où se ramifie -de façon constante- une artère capsulaire. Dans l'espace ainsi délimité, on inclut le greffon pancréatique.

La capsule se referme au-dessus de la greffe par son élasticité propre : le rein est réinséré dans sa loge où l'on dépose une petite quantité de pommade à la Pénicilline. Cette précaution régularise la cicatrisation et évite en particulier la formation de tractus fibreux réactionnels entre le rein et les organes voisins ou le rein et la paroi. La loge rénale est suturée en deux plans, un plan musculaire, un plan cutané.

Le tableau 1 résume les conditions expérimentales réalisées.

Tableau 1

GREFFES DE PANCREAS CHEZ LE RAT ADULTE

AUTOGREFFES	HOMOGREFFES
- fragment de la queue du pancréas	- de pancréas adulte
- broyat d'un fragment de la queue du pancréas	- de pancréas foetal
	- de pancréas foetal préalablement cultivé

LES CULTURES DE PANCREAS

Les techniques de culture organotypique mises en point et développées par GAILLARD (52) perfectionnés par WOLFF et son Ecole (133-134), cf. MEUNIER et Coll. (97), sont apparues comme des procédés de choix pour élucider les problèmes d'histogénèse de différenciation cellulaire et organique.

Au cours de nos recherches, deux types de cultures ont été réalisées selon la nature des milieux utilisés, mais toujours selon le mode organotypique d'après la technique de WOLFF et Coll. 1952 (133) (134).

Les ébauches pancréatiques ont été prélevées aux 16ème, 17ème, 18ème, 19ème et 20ème jours de la grossesse. Rincées dans une solution de Tyrode, débarrassées autant que possible des éléments conjonctifs qui les entourent, elles ont été cultivées en entier pour les ébauches prélevées au 16ème jour, après fragmentation en deux parties au moins pour les ébauches prélevées plus tardivement. Les cultures -pour chaque type d'ébauche- ont été réalisées sur milieux naturels d'une part, sur milieux artificiels d'autre part.

Les milieux naturels étaient composés soit de gélose,

de solution de Tyrode, de milieu de TROWELL et de plasma homologue, soit de gélose, de solution de Tyrode, de sérum et de milieu C préparé selon WOLFF 1952-1953 (133-134). La composition aminée de ce milieu a été établie de manière à satisfaire les besoins nutritifs d'une ébauche d'organe en voie de croissance in vitro.

Les milieux artificiels étaient également gélosés et contenaient de la polyvinylpyrrolidone, du liquide de Tyrode et selon les séries expérimentales, les matériaux nutritifs étaient apportés par le milieu C de WOLFF ou le milieu de TROWELL.

La composition de ces milieux est la suivante :

Milieu C de WOLFF (1953)

L	Lysine HCl	15,1 mg
L	Arginine base	7,7 mg
DL	Méthionine	2,6 mg
DL	Histidine	3,1 mg
acide L glutamique		14,1 mg
acide DI aspartique		5,9 mg
L	Proline	5,1 mg
L	Cystéine HCL	1,5 mg
L	Tryptophane	5,0 mg
DL	Phénylalanine	7,0 mg
L	Leucine	9,0 mg
DL	Isoleucine	10,0 mg
DL	Thréonine	12,0 mg
DL	Valine	14,0 mg
	Glycine	2,5 mg
L	Tyrosine	1,0 mg
L	Hydroxyproline	2,5 mg
DL	Sérine	12,5 mg
Taurine		5,0 mg
Ornithine 2 HCl		5,0 mg
L	Asparagine	5,0 mg

Ces acides aminés sont dissous dans 25 ml de Tyrode et la solution est stérilisée par tyndallisation.

Milieu T_8 de TROWELL (1958) (125)

NaCl	618 mg
KCl	45 mg
$CaCl_2$	22 mg
$MgSO_4 7H_2O$	25 mg
$NaH_2PO_4 2H_2O$	45 mg
$NaHCO_3$	282 mg
Glucose	400 mg

Pour 100 ml d'eau bidistillée

L	Arginine HCl	2,1 mg
L	Cystéine HCl	4,7 mg
L	Histidine HCl	1,0 mg
L	Isoleucine	2,6 mg
L	Leucine	2,6 mg
L	Lysine HCl	3,6 mg
DL	Méthionine	1,5 mg
DL	Thréonine	4,8 mg
DL	Phénylalanine	3,3 mg
L	Tryptophane	0,4 mg
L	Tyrosine	1,8 mg
L	Valine	2,3 mg
Thionine HCL		1,7 mg
Acide para-amino-benzoïque		3,5 mg
Insuline		5,0 mg
Chloramphénicol		3,0 mg
Rouge de Phénol		1 à titre d'indicateur coloré

Ce milieu est également stérilisé par tyndallisation.

Les fragments de glandes déposés à la surface de ces milieux gélosés ont été cultivés seuls ou soumis à différents facteurs tissulaires et hormonaux pendant une durée variant de 4 à 18 jours. 320 pancréas ont été cultivés selon ces modalités.

75 de ces cultures ont été, après 4 ou 5 jours selon les lots expérimentaux, greffées sous la capsule rénale d'animaux adulte selon la technique décrite ci-dessus.

LA PANCREATECTOMIE DE L'ANIMAL ADULTE

Pour vérifier -selon les principes de l'endocrinologie expérimentale- les propriétés fonctionnelles des greffons pancréatiques, nous avons cherché à éliminer le pancréas de l'animal porte-greffe.

La technique de pancréatectomie utilisée a été adaptée de celle mise au point par FOGLIA et rapportée dans l'ouvrage de POUMEAU-DELILLE 1954 (109).

Les rats mâles, d'un poids moyen de 90 g, sont maintenus à jeûn pendant 24 heures au moins : l'eau leur est fournie à satiété.

Les animaux, anesthésiés par une injection intrapéritonéale de tribromo-éthanol en solution aqueuse (cf. ci-dessus), subissent une incision cutanée qui s'étend de la ligne médiane en direction de l'angle costo-vertébral gauche : cette incision, légèrement oblique, et curviligne, est immédiatement sus-ombilicale. Elle permet de découvrir largement les muscles abdominaux dont l'incision suivant le même tracé donne accès à la région gastro-splénique.

Le pancréas est disséqué autant que possible à la pince et excisé à l'aide d'un bistouri électrique dont la pointe est suffisamment fine pour que puissent être respectées

les vascularisations duodéno-cholédociennes et pyloriques. On dépose de la pommade à la Pénicilline dans le champ opératoire. La paroi abdominale est suturée en deux plans.

Les animaux ainsi opérés ont reçu -selon les lots expérimentaux- le traitement post-opératoire suivant : une injection sous-cutanée de 1 ml d'une solution glucosée à 5 % aussitôt l'opération en même temps qu'une injection de Cortisone - 2,5 mg par voie intramusculaire.

LES TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

Les fragments cultivés et les greffons ont été, au terme des expériences, fixés soit par liquide de Bouin, soit par le formol salé à 10 %, inclus à la paraffine, coupés en série à 5 microns et les préparations obtenues, colorées tantôt par une méthode trichrome, tantôt par l'hématoxyline de GOMORI à l'hématoxyline chromique et la phloxine, dans un petit nombre de cas par la méthode de GABE à la fuschine paraldéhyde. L'une et l'autre de ces méthodes permettent de caractériser les inclusions sécrétoires protéiques du cytoplasme des cellules B du pancréas.

°

° °

C H A P I T R E I

EVOLUTION DE L'INSULOGENESE ECTOPIQUE

HOMOGREFFES ET AUTOGREFFES DE PANCREAS ADULTE

Nous avons abordé l'étude de l'insulogénèse pancréatique chez le rat et la différenciation des cellules B en effectuant des greffes de fragments de pancréas adulte. Ces conditions expérimentales avaient pour objet :

a) d'étudier les conditions de survie des greffons,

b) d'étudier l'évolution chez le porte-greffe des îlôts inclus dans le greffon,

c) de mettre éventuellement en évidence des aspects de passage acino-insulaire dans les greffons.

Ces trois problèmes ont été envisagés à propos d'homogreffes et d'autogreffes de fragments pancréatiques.

EVOLUTION D'HOMOGREFFES DE FRAGMENTS PANCREATIQUES

- Technique expérimentale :

Un groupe de huit rats mâles d'un poids moyen de 110 g provenant de la même portée subit une pancréatectomie partielle limitée à la queue de l'organe : les animaux sont

opérés deux par deux sous anesthésie au tribromo-éthanol et les fragments pancréatiques prélevés échangés de l'un à l'autre rat, insérés sous la capsule rénale (cf. ci-dessus). Pour chaque animal, 5 à 8 mm^3 de parenchyme pancréatique sont ainsi implantés. Les animaux n'ont reçu aucun traitement post-opératoire et ils ont été répartis en deux lots : le premier lot est constitué de 4 animaux sacrifiés au bout de douze jours d'expérience, le deuxième lot, constitué également de 4 animaux, est sacrifié 21 jours après le début de l'expérience.

- Résultats obtenus :

Dans le lot 1, les 4 animaux opérés passent d'un poids moyen de 110 g à un poids de 140 g en 12 jours : $\Delta P/P$ = 28,2 % (°°) (témoin 44 %). Tous les animaux présentent à la surface du rein droit une formation papuleuse d'aspect nacré, beaucoup moins saillante qu'au moment de la mise en place du greffon. A l'examen microscopique, la capsule rénale est intacte, le parenchyme rénal à peine déprimé. Le greffon a un aspect dense ; il est constitué essentiellement de lymphocytes disposés au sein d'une riche armature fibrillaire et vasculaire. En un point quelconque du greffon, on observe deux ou trois sections tubulaires à paroi mince et parfois endothéliforme qui représentent à elles seules le parenchyme greffé. On n'observe aucune mitose au niveau de ces tubes dont les cellules sont complètement quiescentes et agranulaires.

Dans ces conditions expérimentales, la majeure partie du greffon pancréatique a involué.

Les 4 animaux du lot II ont également une évolution pondérale ralentie. Leur poids moyen passe de 110 g à 156 g. Au moment du sacrifice, dans la région où a été implanté le greffon, on observe une macule blanchâtre. A l'examen microscopique, sous la capsule demeurée intacte, le parenchyme rénal présente chez deux animaux un phénomène de hyali-

(°°) ΔP = différence entre le poids final et le poids initial
P = poids initial

nisation au-dessus duquel on observe une zone fibreuse, riche en histiocytes complètement dépourvue de reliquats pancréatiques.

Au bout de 21 jours de greffe, le parenchyme implanté est complètement détruit par l'organisme du receveur.

Dans ces conditions expérimentales, l'homogreffe de fragments pancréatiques ne fournit aucun renseignement sur les conditions de l'insulogénèse puisque, malgré la parenté étroite des donneurs et des receveurs, les greffons présentent des caractères antigéniques qui se traduisent par une réaction lympho-histiocytaire de l'hôte, ce qui limite leur évolution. L'absence de lésions du parenchyme rénal au 12ème jour de l'expérience invite à considérer que la destruction du greffon n'est pas une autolyse due à une éventuelle activité trypsique des acini greffés.

Ces résultats nous ont amené à réaliser des autogreffes pour éliminer les phénomènes immunitaires.

EVOLUTION D'AUTOGREFFES DE FRAGMENTS PANCREATIQUES

- Technique expérimentale :

Trois groupes de rats ont subi une pancréatectomie partielle limitée à la queue de l'organe.

Les animaux du premier groupe -au nombre de 24- sont opérés de la manière la plus simple ; le fragment pancréatique extirpé est implanté sous la capsule du rein gauche. L'expérience a duré 12 jours au minimum, 70 jours au plus.

Dans un deuxième groupe de 12 animaux, les fragments pancréatiques prélevés sont dissociés suivant trois modalités de manière à détruire l'armature conjonctive du greffon et à éliminer autant que possible une éventuelle "inhibition de

contact" qui s'opposerait à la multiplication cellulaire.

Dans un lot de 4 animaux, le fragment pancréatique est dilacéré aussi finement que possible à la pince et aux ciseaux dans un milieu acidifié à l'aide d'acide ascorbique pour éliminer l'action possible des enzymes protéolytiques, libérés par les cellules glandulaires.

Pour un autre lot de 4 animaux, le fragment pancréatique est dilacéré à travers un tamis de maillechort stérile dont les mailles mesurent 1 mm de côté : on sépare, dans ces conditions, l'armature conjonctive des formations épithéliales : le tissu glandulaire peu cohérent, traité par l'acide ascorbique, est instillé à l'aide d'une pipette sous la capsule du rein gauche de l'animal.

Dans un dernier lot, également de 4 animaux, le parenchyme pancréatique est dissocié selon la technique classique de trypsinisation des organes, après fragmentation au bistouri d'une portion de la glande. La suspension cellulaire est centrifugée dans une solution saline acidifiée par l'acide ascorbique et le culot obtenu est instillé à l'aide d'une pipette sous la capsule du rein gauche.

Le troisième groupe de rats comprenait 36 animaux. L'ablation de la queue du pancréas fournit un greffon immédiatement inséré sous la capsule rénale. Dans ce groupe, plusieurs lots expérimentaux sont individualisés : ils sont soumis à un traitement post-opératoire qui est poursuivi pendant toute la durée de l'expérience.

Le lot 1 comprend 8 animaux qui ont reçu à partir du jour de la greffe 500 unités anticallicréine d'un polypeptide inhibiteur de la trypsine (Zymofren Specia). Le produit a été administré chaque jour à la même heure en injections intramusculaires.

Le lot 2, contenant 10 rats, a été soumis à un

régime hyperglucidique dans les conditions suivantes : l'eau de boisson des animaux est une solution glucosée à 30 %.

Le lot 3 comprend 10 rats qui ont reçu à partir de la mise en place du greffon une injection quotidienne de Thyroxine à la dose de 0,5 mg.

Dans le quatrième lot expérimental (8 animaux), on trouve des animaux qui ont reçu chaque jour pendant toute la durée de l'expérience 75 mg de chlorpropamide en solution dans l'eau de boisson (Diabinèse Pfizer). Cette substance -appartenant au groupe des sulfonyl-urée- a pour propriétés essentielles de stimuler les cellules B du pancréas endocrine qui deviennent ainsi plus visibles en dehors des périodes excrétoires de leur fonctionnement.

Pour les animaux du deuxième et du troisième groupe, la durée de l'expérience a été de 12 jours.

Le tableau ci-après récapitule ces conditions expérimentales :

AUTOGREFFES DE PANCREAS ADULTE

SERIES	Groupe I		Groupe II			Groupe III			
	a	b	a	b	c	a	b	c	d
Nombre d'animaux	12	12	4	4	4	8	10	10	8
Durée en jours	12	70	12	12	12	12	12	12	12
Type du greffon	fragm	fragm	broya	tami-sage	trypsina	frag	frag	frag	frag
Traitement post-opératoire	0	0	0	0	0	antitrypsine	glucose	thyroxine	chlorpropamide

- Résultats obtenus :

. Evolution des fragments pancréatiques greffés sans traitement post-opératoire

Chez les animaux ainsi traités, l'évolution pondérale est normale si on la compare à celle des animaux témoins du même âge : $\Delta P/P = 44\ \% \pm 2$.

L'aspect des greffons est différent suivant la durée de l'expérience.

Chez les 12 animaux sacrifiés 12 jours après la mise en place du greffon, on retrouve dans 10 cas sur 12 une papule très étalée à la surface du rein. A l'examen microscopique, chez ces 10 animaux dont le greffon est conservé, on observe sous la capsule du rein une zone fibreuse dont l'épaisseur varie d'un animal à l'autre : cette formation est vascularisée et certains des néo-vaisseaux sont ectasiés : on y observe des cellules conjonctives, d'aspect fibrocytaire le plus souvent. Dans cette zone se trouvent, souvent en amas, parfois à l'état isolé, des acini toujours dilatés, à paroi épaisse formée d'une seule couche de cellules un peu plus hautes que larges : cette paroi est souvent festonnée. On observe également des tubes épithéliaux dont la lumière large est parfois sinueuse : leur paroi est mince, souvent endothéliforme. Dans la paroi de certains tubes, on observe des cellules en mitose. Les amas de cellules endocrines sont rares, de volume réduit, parfois en cours de hyalinisation. On n'observe jamais de cellules porteuses de granulations colorables par l'hématoxyline chromique.

Au bout de 70 jours d'expérience, 4 animaux sur 12 ne présentent pas de greffon visible macroscopiquement ou sur les coupes examinées au microscope. Chez les huit animaux restants, on observe sous la capsule du rein une couche très mince de fibres collagènes, de fibrocytes très inégalement infiltrées de lymphocytes : dans la grande majorité

des cas (7 fois sur 8), cette zone est peu vascularisée et elle contient un petit nombre de sections tubulaires, tantôt isolées, tantôt accolées. La lumière de ces formations est toujours large, leur paroi est mince. Chez trois animaux sur huit, on observe des acini d'aspect kystique. Chez trois autres animaux, on constate la présence d'amas épithéliaux de volume réduit formés de cellules d'aspect non différencié non colorables par la méthode de Gomori.

Dans nos conditions expérimentales, l'autogreffe de pancréas adulte permet d'observer à court terme le maintien simultané des structures exocrines et endocrines. A long terme, la régression des structures exocrines est nette, elle ne s'accompagne pas de néoformation d'îlôts de LANGERHANS. Ce fait ne semble pas en accord avec les données acquises dans d'autres espèces où l'on a pu observer ces phénomènes au niveau du pancréas dont la portion exocrine a été électivement détruite.

· Evolution de greffons constitués de pancréas adulte dissocié

= Greffe d'un broyat de pancréas

Lorsqu'on instille sous la capsule rénale un broyat de parenchyme pancréatique, on observe, 12 jours après le début de l'expérience, un greffon très étalé, à peine saillant à l'examen macroscopique. Sur les coupes, le parenchyme rénal est à peine séparé du greffon par une zone conjonctive très mince. La greffe est peu vascularisée : elle contient des acini kystiques, des tubes dilatés et quelques îlôts de petite taille formés de cellules basophiles dont certaines seulement sont colorables par la méthode de Gomori à l'hématoxyline chromique.

= Greffe de pancréas dissocié par tamisage

Chaque fois que le greffon a été fourni par le produit de tamisage d'un fragment pancréatique, l'aspect général du greffon est très voisin de ceux obtenus après

broyat. A l'examen microscopique, on observe essentiellement des formations tubuleuses à paroi mince. Les structures acineuses sont rares, kystiques le plus souvent et on observe, de façon irrégulière, des amas de cellules, parfois en mitose (1 par champ à G = 400 en moyenne). Ces éléments, non différenciés, très faiblement basophiles, ne sont pas colorables par l'hématoxyline chromique.

= Greffe de cellules pancréatiques obtenues par trypsinisation

Dans les greffes obtenues par instillation d'une suspension cellulaire après trypsinisation, les cellules pancréatiques, groupées en tubes très dilatés, entrent directement en contact avec le parenchyme rénal, s'encastrent parfois dans le cortex rénal. On y observe également des amas de cellules peu différenciées, basophiles : certaines sont très faiblement colorables par l'hématoxyline chromique.

Dans nos conditions expérimentales, les artifices utilisés pour désorganiser le parenchyme exocrine greffé ne modifient pas les propriétés évolutives des cellules exocrines et ne préparent pas de phénomène de néo-insulogénèse.

. Evolution des greffes de pancréas chez des animaux soumis à différents traitements post-opératoires

= Action d'une antitrypsine

La régression partielle des fragments pancréatiques autogreffés nous a amené à envisager l'hypothèse d'une inhibition d'origine trypsique. Pour éliminer ce phénomène, nous avons étudié l'évolution des greffons implantés chez des animaux soumis, à partir de la greffe, à des injections d'un inhibiteur de la trypsine.

Chez les animaux ainsi traités, la courbe de croissance pondérale s'infléchit par rapport à celle des témoins :

$\Delta P/P$ = 20 % ± 3. Au jour du sacrifice, les greffons sont d'aspect nodulaire, saillants à la surface du rein mais de diamètre réduit. Sur les coupes, le parenchyme pancréatique est séparé du rein par une zone fibreuse nette : la vascularisation est peu importante : on observe des formations cavitaires limitées par un épithélium cubique et quelques amas cellulaires qui contiennent de rares éléments en mitose. Ces cellules sont basophiles, non colorables par l'hématoxyline chromique. Ce traitement est pratiquement sans effet sur les caractères évolutifs des greffons.

= Action de l'hyperglycémie provoquée

Pour étudier l'action éventuelle d'une hyperglycémie provoquée sur l'insulogénèse, nous avons examiné l'évolution des greffons chez 10 rats suralimentés en glucose.

Chez ces animaux, la courbe pondérale est normale. Au terme de l'expérience, la glycémie est de 3,50 g. Les greffons sont -de façon constante- étalés et volumineux. A l'examen histologique, le greffon est séparé du parenchyme rénal par une couche conjonctive : il est constitué par de nombreux acini, volumineux, légèrement dilatés. Leur paroi est épaisse, on y observe des mitoses et des cellules très basophiles, parfois colorables par la technique de Gomori. On observe quelques formations tubuleuses et des îlôts de LANGERHANS qui semblent en voie de développement puisqu'ils contiennent des cellules en mitose : la coloration par l'hématoxyline chromique est toujours fortement positive.

= Action de la Thyroxine

Chez les animaux ainsi traités, la courbe de poids s'infléchit si on la compare à celle des animaux témoins $\Delta P/P$ = 31 % ± 2. De façon constante, les greffons apparaissent petits : leur examen histologique révèle qu'ils sont constitués de plusieurs nodules épithéliaux séparés par des zones fibrocytaires et fibreuses. Ces greffons sont

peu vascularisés. Dans les nodules, on observe des structures acineuses dilatées, des tubes : on n'observe pas de structures insulaires. Dans nos conditions expérimentales, la Thyroxine ne semble pas stimuler l'insulogénèse au niveau des greffons.

= Action de la Chlorpropamide :

Nous avons, dans un dernier lot expérimental de 8 rats, étudié l'action de la Chlorpropamide connue pour ses effets stimulants des cellules B. Chez les animaux soumis à ce traitement, la courbe pondérale est basse : $\Delta P/P = 12\ \% \pm 2$. Au jour du sacrifice, 5 animaux sur 8 portent des nodules sous la capsule rénale. Au microscope, trois nodules seulement contiennent du parenchyme pancréatique, les deux autres sont fibreux. Dans les greffons positifs, on observe de petits nodules formés d'acini kystiques, des tubes dilatés et de petits amas épithéliaux non colorables par l'hématoxyline chromique.

Cette série expérimentale invite à concevoir que le traitement par la Chlorpropamide trouble profondément le métabolisme des animaux et provoque une involution globale du parenchyme pancréatique greffé. Il ne nous a pas été donné d'en élucider le mécanisme ni d'observer au niveau des greffons les phénomènes de néo-insulogénèse.

Dans les conditions de nos recherches, les homogreffes de pancréas sont compatibles avec la survie très limitée de formations exclusivement exocrines dont l'évolution semble conditionnée par des phénomènes immunitaires.

Dans le cas des autogreffes -qui éliminent le facteur immunologique- l'involution du parenchyme greffé est également nette : on n'observe pas d'insulogénèse ectopique sauf chez les animaux suralimentés en glucose. Les autres substances considérées comme insulogènes -la Thyroxine et la Chlorpropamide- ont été sans action dans nos conditions expérimentales.

°

° °

C H A P I T R E II

EVOLUTION DE L'INSULOGENESE ECTOPIQUE

HOMOGREFFES DE PANCREAS FOETAL

Nos expériences ont consisté à étudier le devenir de telles greffes dans le cas du pancréas foetal du rat implanté chez l'adulte de la même souche.

TECHNIQUE EXPERIMENTALE

124 rats d'un poids moyen de 150 grammes ont été utilisés et répartis en plusieurs séries expérimentales

a) suivant l'âge du foetus donneur,

b) suivant la durée de la greffe,

c) suivant le traitement imposé au receveur avant l'opération ou au cours de l'évolution du greffon jusqu'à la fin de l'expérience.

Le tableau ci-après rend compte des conditions de l'expérience et de la répartition des animaux selon les séries expérimentales.

Tableau 3

HOMOGREFFE DE PANCREAS FOETAL CHEZ L'ANIMAL ADULTE

Age du foetus donneur	durée de la greffe	Traitement	Nombre d'animaux vivants en fin d'expérience
16 jours	7	0	6
	14	0	4
	21	0	4
	21	Cortisone	5
	23	rats traités préventivement par l'alloxane	8
17 jours	7	0	8
	14	0	8
	21	0	8
18 jours	7	0	4
	14	0	4
	21	0	9
	21	Cortisone	5
	21	Pancréatectomie	6
19 jours	7	0	7
	14	0	7
	21	0	3
	29	0	8
	101	0	8
20 jours	7	0	4
	14	0	4
	21	0	4

La répartition des lots expérimentaux en fonction de l'âge des foetus donneurs tient compte de la chronologie de la différenciation de l'ébauche pancréatique chez le rat. La glande est complètement indifférenciée et dépourvue de structures endocrines au 16ème jour de la vie intra-utérine. Elle acquiert au 17ème jour des cellules A, des cellules B au 18ème jour de la grossesse et des îlôts d'aspect définitif au 20ème jour.

Pour deux séries de rats, le traitement par la Cortisone a été poursuivi pendant toute la durée de l'expérience dans l'intention de déprimer la défense immunitaire des receveurs.

Pour deux séries de rats également, le traitement préventif par l'Alloxane d'une part, la pancréatectomie large d'autre part, avait pour objet de créer dans l'organisme des receveurs une hyperglycémie endogène qui stimule éventuellement l'insulogénèse au niveau des greffons.

RESULTATS OBTENUS (cf. BERJON et MEUNIER 1972 (19))

. Evolution des greffons en fonction du stade de différenciation de l'ébauche pancréatique greffée et de la durée de la greffe

= Homogreffes au 16ème jour

Lorsque les greffons sont constitués par des ébauches pancréatiques prélevés au 16ème jour de la grossesse (deux ébauches implantées chez chaque receveur), l'aspect microscopique des greffons change considérablement entre le7ème et le 21ème jour de l'expérience.

Sept jours après la greffe, chez des animaux dont la courbe pondérale est normale, on observe sous la capsule du rein, dans six cas sur six, au sein d'un nodule riche en fibroblastes qui sont parfois en mitose, des acini nombreux,

irrégulièrement dilatés. Les tubes glandulaires sont rares, quelquefois dilatés et leur paroi est mince. Le greffon contient de façon irrégulière des amas épithéliaux de type insulaire dont les cellules ne sont jamais colorables par la méthode de Gomori. Les greffons sont peu vascularisés.

Chez les animaux sacrifiés 14 jours après la greffe, le greffon, extrêmement riche en lymphocytes, peu vascularisé, contient de rares acini kystiques à paroi mince. Les tubes pancréatiques sont nombreux, leur paroi est épaisse et dans certaines zones, stratifiés. Dans la moitié des cas, on observe des formations insulaires typiques colorables par l'hématoxyline chromique.

Au bout de 21 jours de greffe, chez trois animaux sur quatre, le greffon est en voie d'involution et remplacé par un nodule fibreux et histiocytaire. Chez le dernier animal, au sein d'une réaction lympho-histiocytaire intense, on trouve essentiellement des tubes pancréatiques dilatés et un petit amas épithélial d'aspect insulaire, colorable par l'hématoxyline chromique.

= Homogreffes au 17ème jour

Lorsque le pancréas est prélevé au 17ème jour de la grossesse, l'évolution générale est la même et elle aboutit à la destruction du greffon au bout de 21 jours d'expérience. Dans chaque lot d'animaux, les résultats sont homogènes.

Après sept jours de greffe, la réaction fibreuse est modérée et on observe des acini nombreux, d'aspect dense le plus souvent, des tubes rares dont la paroi est stratifiée : chez deux animaux sur huit seulement, on constate l'existence d'îlôts endocrines colorables par l'hématoxyline chromique.

14 jours après la mise en place du greffon, la réaction fibreuse et fibrocytaire est devenue importante. Les

acini sont nombreux, disséminés, quelquefois kystiques : les tubes sont souvent très abondants, leur paroi est mince dans la majorité des cas. On observe dans tous les cas des îlôts endocrines nombreux, parfois mal délimités, contenant des cellules en mitose. Les cellules sont intensément colorables par l'hématoxyline chromique.

Au 21ème jour de l'expérience, un seul animal porte un greffon qui contient une formation acineuse résiduelle au sein d'une réaction conjonctive intense.

= Homogreffes au 18ème jour

Lorsque le pancréas est prélevé le 18ème jour de la grossesse, c'est-à-dire au moment de la mise en place des îlôts de LANGERHANS définitifs, l'évolution des greffons est caractérisée par la précocité d'apparition de la réaction fibro-histiocytaire.

Sept jours après la greffe, le nodule sous-capsulaire rénal est volumineux parce qu'il est riche en cellules conjonctives. On y trouve d'autre part de nombreux acini d'aspect normal, des tubes excréteurs également sans caractères particuliers, des îlôts endocrines de petite taille, Gomori positif dans trois cas sur quatre.

Au 14ème jour de l'expérience, le nodule sous-capsulaire rénal, principalement de nature conjonctive est très riche en lymphocytes. On y trouve des acini clairsemés et en voie d'involution, de rares tubes excréteurs et quelques îlôts endocrines non colorables par la méthode de Gomori.

21 jours après la mise en place du greffon, l'involution du parenchyme pancréatique est complète dans six cas sur neuf et le nodule sous-capsulaire rénal a un aspect fibreux, riche en lymphocytes, parfois en polynucléaires. Chez les trois animaux restants, le nodule conjonctif héberge des résidus épithéliaux très clairsemés parmi lesquels on

n'observe pas de structures endocrines.

= Homogreffes au 19ème jour

Dans la série expérimentale constituée de rats porteurs de greffons prélevés chez des foetus de 19 jours, l'évolution des greffons a été suivie de 7 à 101 jours.

Au bout de 7 jours d'expérience, au sein d'un nodule lympho-histiocytaire, on observe des acini, de rares tubes sans caractères anormaux et dont les cellules épithéliales sont parfois en mitose. Les structures endocrines sont constantes : leur organisation est d'autant plus typique qu'on y distingue deux types cellulaires associés, les uns colorables par l'hématoxyline chromique, les autres colorables par la phloxine.

Ces îlôts persistent jusqu'au 14ème jour de l'expérience, mais leur volume diminue, pendant que les structures exocrines prennent un aspect kystique et régressent. Cette double évolution s'effectue au sein de nodules glandulaires dispersés dans une formation riche en lymphocytes et en histiocytes.

Aux 21ème, 29ème et 101ème jours de l'expérience, l'aspect des nodules sous-capsulaires rénaux est toujours le même : ce sont des formations exclusivement conjonctives dépourvues de structures pancréatiques.

Lorsque les greffons ont été prélevés chez des foetus âgés de 20 jours, l'évolution histologique et cytologique est analogue à celle du 19ème jour. L'involution des fragments pancréatiques semble plus précoce : elle est déjà nette au 7ème jour de l'expérience.

Dans nos conditions expérimentales, quel que soit l'âge du foetus donneur, on observe une involution inévitable du fragment greffé, d'autant plus importante et précoce que

l'ébauche a été prélevée avant la constitution des îlôts de LANGERHANS dans le pancréas, on y observe des structures endocrines qui se développent jusqu'au 7ème jour de l'expérience et acquièrent jusqu'au 14ème jour les signes cytologiques d'activité hormonogène. Lorsque les greffons sont prélevés après la différenciation des îlôts de LANGERHANS, ils contiennent d'emblée des cellules endocrines actives.

. Evolution des greffons en fonction du traitement administré au receveur

= Action de la Cortisone

L'observation de l'involution pancréatique au fur et à mesure qu'évolue la greffe peut être attribuée à un phénomène immunitaire puisqu'on en observe tous les signes histologiques et cytologiques. Pour essayer d'éliminer ce phénomène, nous avons étudié l'évolution de greffons de pancréas prélevés au 16ème et au 18ème jour de la grossesse et implantés chez des animaux traités par la Cortisone dont le rôle immuno-dépresseur est connu.

Lorsque le greffon est prélevé au 16ème jour de la grossesse, les structures épithéliales pancréatiques persistent en abondance jusqu'au 21ème jour de l'expérience. Elles constituent des acini nombreux et dilatés, des tubes kystiques et des îlôts de dimensions réduites, non colorables.

Lorsque le pancréas greffé est prélevé au 18ème jour de la grossesse, le traitement cortisonique du receveur ne modifie pas l'évolution de la greffe qui involue de façon à peu près complète et apparaît au 21ème jour de l'expérience sous l'aspect d'un nodule fibreux riche en histiocytes et en lymphocytes.

Dans nos conditions expérimentales, l'action de la Cortisone sur la réponse immunitaire du receveur est très limitée.

= Action de la glycémie du receveur

Les résultats obtenus au niveau des autogreffes de pancréas chez les animaux suralimentés en glucose nous ont amenés à explorer l'action éventuelle sur des greffes bréphoplastiques d'une augmentation de la glycémie provoquée chez le receveur par un traitement alloxanique préventif ou une pancréatectomie large effectuée au 21ème jour de l'évolution du greffon.

Chez des animaux rendus diabétiques par l'alloxane, des pancréas prélevés au 16ème jour de la grossesse ont été implantés sous la capsule rénale 12 jours après la fin du traitement alloxanique. La greffe a duré 23 jours. Chez tous les animaux, l'involution des structures pancréatiques greffées est complète : l'hyperglycémie consécutive à l'administration d'alloxane n'a pas provoqué d'hyperplasie durable des structures endocrines greffées.

Chez les animaux pancréatectomisés au 21ème jour après la greffe constituée par une ébauche pancréatique prélevée au 18ème jour de la grossesse, l'hyperglycémie postopératoire n'a pas modifié non plus les caractères histologiques et cytologiques des greffons : au 6ème jour après l'opération, les formations pancréatiques résiduelles ne présentent aucun signe de stimulation.

Dans nos conditions expérimentales, l'homogreffe de pancréas foetal permet d'obtenir des structures endocrines transitoires, cytologiquement fonctionnelles. Ces structures involuent en même temps que les formations exocrines, vraisemblablement par un mécanisme immunitaire que l'on ne peut déprimer par la Cortisone que de façon très partielle. L'hyperglycémie endogène n'a eu, chez les animaux que nous avons utilisés, aucune action stimulante sur l'insulogénèse.

°

° °

C H A P I T R E III

CULTURE ORGANOTYPIQUE D'EBAUCHES PANCREATIQUES

ETUDE DE L'INSULOGENESE IN VITRO

Les résultats observés au niveau des homogreffes de pancréas foetal invitent à concevoir que, dans le cas des ébauches pancréatiques les plus jeunes, l'insulogénèse apparaît dans les greffons dépourvus des connexions vasculaires et nerveuses du pancréas en place. Nous avons voulu, en étudiant l'évolution de cultures organotypiques de pancréas sur différents milieux, vérifier l'hypothèse du développement autonome du pancréas endocrine.

. Evolution des cultures en fonction de l'âge du foetus utilisé et en fonction de la durée de la culture

Des ébauches pancréatiques ont été prélevées aux 16ème, 17ème, 18ème et 20ème jours de la vie intra-utérine. Elles ont été mises en culture sur un milieu gélosé où les éléments nutritifs étaient apportés par la solution T_8 de TROWELL de manière à éviter tout apport de substances hormonales ou nutritionnelles contenues dans le plasma qui entre dans la composition des milieux de culture dits naturels.

= Explants du 16ème jour

Lorsque les explants sont constitués par des pancréas de foetus de 16 jours, les cultures peuvent être entretenues facilement pendant cinq jours. A ce stade de leur évolution, elles ont un aspect généralement dense : on y observe des massifs épithéliaux non différenciés mal délimités par de rares formations conjonctives. Entre les amas épithéliaux, on observe quelques tubes à paroi mince et à lumière large, des formations acineuses peu nombreuses dont la paroi est formée de cellules cubiques. Rapidement après le 5ème jour, sur ces milieux, les explants commencent à involuer et ils présentent au 18ème jour de l'expérience un aspect nécrotique uniforme.

= Explants du 17ème jour

Les cultures d'ébauches pancréatiques prélevées au 17ème jour de la grossesse ont été étudiées au bout de 5, 8, 12 et 18 jours. Au 5ème jour de l'expérience, les explants ont un aspect très proche de celui qui caractérise les ébauches prélevées au 16ème jour. On retrouve les mêmes amas épithéliaux indifférenciés, non colorables par la méthode de Gomori. Les acini, à paroi épaisse, sont dépourvus d'activité élaboratrice : les tubes excréteurs sont dilatés et ont souvent un aspect kystique. Au 8ème jour, l'organisation générale de l'explant n'est pas modifiée : on y retrouve les mêmes caractères cytologiques : les explants présentent, de façon irrégulière, des signes diffus de lyse cellulaire. La nécrose est nette à 12 jours : elle est complète à 18 jours.

= Explants du 18ème, 19ème et 20ème jour

Lorsque les explants ont été préparés à partir d'ébauches pancréatiques prélevées le 18ème, le 19ème ou le 20ème jour de la grossesse, leur évolution in vitro est considérablement raccourcie. Les signes de nécrose sont importants dès le 5ème jour de l'expérience. Les explants contiennent, à ce stade de leur évolution, des tubes dilatés

qui leur donnent un aspect alvéolaire.

Dans nos conditions expérimentales sur milieu de TROWELL T_8 gélosé, l'évolution des explants pancréatiques est d'autant plus courte qu'ils sont prélevés plus tardivement au cours de la grossesse. Il ne nous a pas été possible d'établir si ce phénomène pouvait être attribué à l'apparition de l'activité exocrine pancréatique. Dans ces conditions de culture, il apparaît ou il persiste dans les explants des amas de cellules épithéliales morphologiquement non différenciées, dépourvues de granulations Gomori positif. Leur aspect ne permet pas d'affirmer qu'il s'agit de l'ébauche de structures hormonogènes.

. Evolution des cultures suivant le milieu utilisé

Les résultats ainsi acquis sur le milieu de TROWELL et les données obtenues au cours des expériences d'homogreffes nous ont amené à considérer que l'ébauche pancréatique prélevée au 17ème jour de la grossesse est celle qui convient le mieux -dans le cas du rat- à l'étude expérimentale de la différenciation glandulaire. Nous avons dans ces conditions cultivé des ébauches de ce type

- sur milieu C de WOLFF
- sur milieu complexe constitué de solution de TROWELL et de plasma de rat
- sur milieu constitué de milieu C et de sérum de rat.

Les cultures ont été entretenues 5 et 7 jours sur milieu C et 5 à 12 jours sur milieux enrichis en plasma ou en sérum.

. Evolution des cultures sur milieu C

Les explants cultivés sur milieu C apparaissent au 5ème jour de l'expérience mal délimités et pourvus de contours

irréguliers. On observe des acini très rares, des tubes d'aspect kystique et des plages épithéliales étendues qui contiennent de nombreuses cellules en mitose. Au 7ème jour, les explants sont plus denses, les acini sont en voie de disparition : on observe quelques tubes très dilatés et kystiques, disposés au sein de massifs cellulaires très denses et riches en cellules en mitose. Sur milieu C, l'ébauche pancréatique prélevée au 17ème jour de la grossesse semble subir une dédifférenciation.

. Evolution des cultures sur milieux contenant du plasma

Sur les milieux enrichis en plasma, les explants pancréatiques prennent un aspect très particulier qu'ils conservent intégralement jusqu'au 12ème jour de l'expérience. Dès le 5ème jour, les explants ont un aspect nummulaire très régulier : ils contiennent une ou deux formations kystiques visibles au grossissement 6. Sur les coupes histologiques, ils apparaissent bordés par un épithélium très mince, endothéliforme. Au sein des explants, les structures conjonctives sont conservées comme les formations épithéliales. Dans le stoma conjonctif, riche en fibrocytes, on observe des tubes peu nombreux, des acini légèrement ouverts à paroi parfois plicaturée, d'aspect papillaire. Les amas épithéliaux sont peu importants et rares. Au 7ème jour de culture, on observe de nombreuses mitoses et le nombre des plages épithéliales non différenciées augmente : les tubes prennent progressivement une structure kystique qui se confirme jusqu'au 12ème jour de l'expérience.

Dans les cultures fixées au bout de 12 jours, le rapport entre les éléments conjonctifs et les éléments glandulaires reste le même : les acini changent d'aspect parce que les cellules qui les forment sont intensément éosinophiles. Le nombre des amas épithéliaux non différenciés, leur importance n'augmente pas. On n'observe jamais de cellules colorables par la méthode de Gomori.

L'addition de plasma au milieu de TROWELL permet certes une culture de durée relativement longue mais elle ne nous a pas permis d'obtenir in vitro la formation d'îlôts de type endocrine.

. Evolution des cultures sur milieux contenant du sérum

Le fait que les cultures sur milieu C aient comporté des explants riches en cellules en mitose nous a amené à effectuer deux séries de cultures sur un milieu gélosé contenant du milieu C de WOLFF et du sérum de rat adulte. La première série de cultures a été fixée le 9ème jour après l'explantation, la deuxième série le 13ème jour, après que les explants aient été recoupés au 8ème jour de l'expérience au moment du deuxième repiquage.

Dans la série 1, les explants sont nummulaires, très réguliers : ils sont limités par un épithélium tantôt simple, tantôt pluristratifié. A l'intérieur de cette limite, l'organisation des explants est constante : leur zone médiane est constituée essentiellement par du tissu conjonctif riche en fibroblastes et en fibres collagènes. C'est dans leur portion périphérique que se trouvent disposées les formations glandulaires. On y observe de nombreux acini, toujours fermés, formés de volumineuses cellules prismatiques à noyau basal non déformé : le cytoplasme contient de très nombreuses inclusions granulaires intensément éosinophiles. Dans la paroi de certains acini, on observe des cellules en mitose : on en observe également et en plus grand nombre dans la paroi des tubes épithéliaux excréteurs qui sont à peine dilatés.

Une part très importante des explants est constituée entre le parenchyme exocrine et les éléments conjonctifs par de volumineux amas épithéliaux dont l'aspect est identique à celui d'îlôts de LANGERHANS. Les cellules qui les constituent sont très légèrement basophiles mais elles semblent dépourvues

de granulations Gomori positif. Ces amas épithéliaux sont bien délimités, parfois par des fibres collagènes.

Dans la série 2, cultivés jusqu'au 13ème jour de l'expérience, l'aspect des explants s'est modifié légèrement. Les éléments conjonctifs présentent de façon irrégulière des signes discrets de lyse cellulaire. Les structures exocrines apparaissent dilatées de façon constante : la paroi des acini est mince, les cellules ont perdu leurs enclaves sécrétoires : les cellules en mitose sont rares. Les structures endocrines persistent mais leur aspect basophile s'estompe. On n'observe pas dans les cellules de granulations cytoplasmiques.

Dans ces conditions expérimentales, l'ébauche pancréatique non différenciée est le siège d'une double évolution exocrine et endocrine qui se poursuit au moins jusqu'au 13ème jour de culture, puisque l'on observe encore à ce moment des cellules en mitose. Ces résultats ne sont pas améliorés par l'incorporation de plasma au milieu gélosé. Dans ce cas, on observe également, mais de façon plus nette, parce qu'ils sont mal délimités, des îlôts épithéliaux formés de cellules non différenciées puisqu'elles ne sont pas colorables par l'hématoxyline chromique (cf. BERJON et MEUNIER 1973).

. Evolution de cultures soumises à l'action de différents facteurs "insulogènes"

Les résultats ainsi obtenus, sur les milieux artificiels, nous ont amené à explorer in vitro l'action de différents facteurs qui peuvent être considérés comme insulogènes in vivo.

Nous avons dans ces conditions soumis des cultures organotypiques de pancréas foetal à l'action de Thyroxine, de glycogène : nous avons d'autre part réalisé des cultures associées de fragments pancréatiques avec des fragments

d'hypophyse de la mère, des fragments de foie maternel et des fragments de rein.

= Action de la Thyroxine

Des explants pancréatiques, prélevés au 17ème jour de la grossesse, ont été cultivés pendant 8 jours sur des milieux de TROWELL gélosés, contenant 1/200 de mg de Thyroxine. Au terme de l'expérience, les fragments cultivés, riches en formations kystiques et en amas épithéliaux non différenciés, ne présentent pas de signes de nécrose : on y observe, dans la paroi des quelques tubes demeurés normaux au sein de zones indifférenciées, des cellules en mitose. L'hématoxyline de Gomori ne fait pas apparaître de cellules porteuses de granulations d'insuline. Il semble que dans les conditions de culture utilisées, l'involution des explants est retardée.

= Action du glycogène

Lorsqu'on dépose à la surface des milieux de culture, au voisinage des explants, une très petite quantité de glycogène en poudre, les cultures survivent également pendant 8 jours bien que, à ce stade, on observe des signes discrets de lyse cellulaire. Le parenchyme cultivé apparaît très dense, les acini sont d'aspect normal : leur paroi est épaisse. On observe des zones épithéliales indifférenciées qui contiennent quelques cellules en mitose : aucun élément n'est colorable par l'hématoxyline chromique.

= Action du foie maternel

Les modifications obtenues au niveau des cultures ainsi traitées par le glycogène nous ont amené à reprendre un schéma expérimental analogue à celui utilisé par F.DIETERLEN-LIEVRE. Nous avons associé à la surface des mêmes milieux de culture des ébauches pancréatiques prélevées au 17ème jour de la grossesse et des fragments de parenchyme hépatique de la mère. Les cultures ont été entretenues pendant

5 jours sur milieu C, sur milieu de TROWELL, sur milieu naturel contenant du plasma. Cette expérience avait pour objet de mettre éventuellement en évidence l'action du glycogène hépatique sur l'insulogénèse pancréatique.

Dans ces conditions expérimentales, on observe dans tous les cas un accolement étroit du fragment hépatique et de l'ébauche pancréatique.

Sur le milieu C, les fragments pancréatiques contiennent de nombreuses formations acineuses, des tubes dilatés à paroi mince, des zones indifférenciées. On y observe également des amas de cellules dont l'organisation est insulaire. Ces éléments contiennent des cellules en mitose : ils ne sont jamais colorables par la méthode de Gomori. Le fragment hépatique est -de façon constante- en voie d'involution.

Sur le milieu de TROWELL, les fragments pancréatiques ont un aspect presque complètement homogène : on y observe seulement de rares acini à peine ouverts et quelques sections tubulaires de diamètre réduit : leur paroi est formée de cellules cubiques. Tout le reste du parenchyme a un aspect épithélial massif indifférencié : on y observe de façon très localisée des zones de nécrose. Le fragment hépatique est, comme dans la série précédente, en voie d'involution : seules demeurent intactes et d'aspect fonctionnel, les hépatocytes étroitement accolées au fragment pancréatique.

Lorsque l'association foie adulte-pancréas a été cultivée sur milieux naturels -contenant du plasma- les explants ont un aspect tout différent. La portion hépatique et la portion pancréatique survivent de façon remarquable. Les hépatocytes, très réguliers, y compris au bord de l'explant, sont basophiles : ils adhèrent étroitement aux éléments pancréatiques ; l'organisation générale de la portion pancréatique de l'explant est proche de la normale. Dans un

stroma conjonctif peu dense et riche en cellules, on observe de nombreux acini dont la paroi épaisse est formée de cellules basophiles : les sections tubulaires ont un aspect normal. On observe de rares amas épithéliaux non différenciés.

Dans aucune de ces conditions expérimentales -sur milieux artificiels ou sur milieux naturels- on n'observe la formation d'îlôts endocrines au niveau des fragments pancréatiques associés au foie adulte.

= Action de l'hypophyse antérieure et de l'hormone somatotrope

Nous avons recherché dans ces conditions si l'insulogénèse ne pouvait pas résulter de l'intervention de l'hypophyse antérieure et notamment de l'action de l'hormone somatotrope. On a mis en évidence en effet que l'hormone de croissance exerce une stimulation intense des cellules B au point qu'elle a une action diabétogène dans certaines circonstances. Nous avons dans ces conditions réalisé des cultures de pancréas associées à des fragments de l'hypophyse maternelle d'une part et d'autre part, nous avons exposé in vitro des ébauches de pancréas à l'action éventuelle d'hormone somatotrope. Ces cultures ont été effectuées sur milieu naturel et entretenues également pendant 5 jours.

Dans les explants mixtes -hypophyse pancréas- la portion pituitaire présente des signes isolés de lyse cellulaire et contient de nombreuses cellules éosinophiles. La portion pancréatique a un aspect peu différencié : seules les formations tubulaires, dilatées et à paroi endothéliforme, sont différentes du pancréas témoin. On n'observe pas de structures colorables par l'hématoxyline chromique.

Les ébauches pancréatiques soumises à l'action de l'hormone de croissance sont bien délimitées par une structure endothéliforme. Dans le stroma conjonctif bien

conservé, on observe des acini d'aspect normal et de rares tubes.

Dans chacun des types de cultures, on observe des cellules en mitose mais pas de structures de type endocrine.

Dans toutes ces expériences de cultures, nous n'avons jamais pu observer d'insulogénèse au sein des ébauches pancréatiques prélevées le 17ème jour de la grossesse, quel que soit le facteur "insulogène" administré aux explants. Or, de telles ébauches sont capables, lorsqu'on les greffe sous la capsule rénale, chez l'animal adulte, de se différencier pour donner naissance à des îlôts de LANGERHANS cytologiquement fonctionnels. Nous avons, dans ces conditions, étudié l'action éventuelle de fragments de cortex rénal sur des ébauches pancréatiques en les associant à la surface de milieux de cultures artificiels et naturels.

Lorsque les explants mixtes sont cultivés sur milieu C, la portion rénale de l'explant a un aspect normal : la portion pancréatique est dense : elle contient des acini nettement délimités et contenant des cellules centro-acineuses, des tubes peu nombreux et normaux, des amas indifférenciés : on observe quelques mitoses.

L'aspect est très voisin lorsque l'on considère les cultures réalisées sur milieu de TROWELL ; les acini et les tubes sont légèrement plus dilatés et les amas épithéliaux non différenciés sont plus denses.

Sur les milieux naturels, la portion rénale des explants involue : on observe une hyalinisation des tubes urinaires. La portion pancréatique, très riche en cellules en mitose, contient des acini à paroi épaisse et peu de zones indifférenciées.

Dans aucun de ces cas, on n'observe d'insulogénèse :

les cellules des explants pancréatiques ne sont jamais colorables par l'hématoxyline chromique.

En résumé, quelles que soient les conditions de culture, entre 5 et 18 jours d'explantation, nous n'avons pas observé la constitution d'îlôts endocrines.

°

° °

CHAPITRE IV

EVOLUTION D'EBAUCHES PANCREATIQUES GREFFEES CHEZ L'ANIMAL ADULTE APRES CULTURE ORGANOTYPIQUE

Les caractères évolutifs des homogreffes de pancréas foetal, leur involution d'autant plus précoce que l'ébauche greffée était plus différenciée, nous ont amené à étudier le devenir d'ébauches pancréatiques implantées chez l'adulte au terme d'une phase de culture organotypique sur milieu artificiel. Nous espérions, dans ces conditions, retrouver à propos du pancréas la notion selon laquelle la greffe "bréphoplastique" après culture semble dépourvue d'antigénicité (cf. BERJON, MEUNIER 1972 (20)).

62 rats, d'un poids moyen de 110 g, ont été répartis en 5 lots expérimentaux selon l'origine du greffon : les explants ont en effet été prélevés aux 16ème, 17ème, 18ème, 19ème, 20ème jours de la grossesse et cultivés pendant cinq jours sur milieux artificiels avant d'être implantés au terme de la période de culture chez l'animal adulte. Pour chaque lot expérimental, les greffes ont été examinées aux 7ème et 14ème jours de l'expérience. Dans le cas des ébauches prélevées au 17ème jour de la grossesse, l'expérience a été poursuivie pendant plus longtemps ; 3, 5, 12 et 15 semaines. Dans

ces derniers cas, les caractères fonctionnels des greffons ont été testés non seulement sur le plan cytologique mais encore en pratiquant,cinq heures avant la fin de l'expérience, une pancréatectomie élargie suivie d'une épreuve d'hyperglycémie.

Dans nos expériences, les résultats se répartissent en deux catégories si l'on considère les caractères d'organisation des explants.

Les explants prélevés les 16ème, 18ème, 19ème et 20ème jours de la grossesse fournissent des greffons dont l'évolution est très inconstante.

Pour les explants du 16ème jour, après 14 jours de greffe, la moitié des animaux portent des greffons qui contiennent des acini et des tubes pancréatiques d'une part, des formations endocrines petites mais Gomori positif d'autre part. Ces structures glandulaires sont disseminées au sein d'une zone histiocytaire caractéristique du phénomène de rejet.

Pour les explants du 18ème, 19ème et 20ème jour, les greffons sont -de façon inégale- le siège d'une infiltration lympho-histiocytaire qui commence au 7ème jour de la greffe et qui se développe jusqu'au 14ème jour au moins. Mais on observe jusqu'à ce moment-là des structures exocrines rudimentaires et des formations de type endocrine qui perdent progressivement les signes cytologiques de leur activité hormonogène.

Par contre, les explants prélevés au 17ème jour de la grossesse évoluent constamment de façon différente. Ces greffons, riches en structures conjonctives, sont souvent très abondamment vascularisés; les vaisseaux se développent d'autant plus que la durée de la greffe est plus longue. Au fur et à mesure qu'évolue le greffon, les structures exocrines s'amenuisent. Trois mois au moins après la mise en

place des greffons, on observe des tubes épithéliaux à trajet sinueux parfois bifurqué : leur paroi est formée d'une couche de cellules cubiques, les acini sont rares, leur lumière est large mais ils ne sont jamais d'aspect kystique. 70 à 80 % du parenchyme pancréatique retrouvé sous la capsule rénale sont constitués par des îlôts épithéliaux volumineux : leur organisation est réticulaire parce qu'ils sont parcourus par de nombreux capillaires. Les cellules qui les constituent sont volumineuses, à limites imprécises : de façon constante, ces éléments sont intensément basophiles et colorables par l'hématoxyline chromique.

Dans nos conditions expérimentales, tout se passe comme si les structures exocrines involuaient de façon lente et irrémédiable alors que se développent de façon nette et considérable des structures endocrines qui n'existaient ni dans l'ébauche mise en culture, ni dans l'explant au moment de la greffe.

Nous avons, dans ces conditions, cherché à définir les caractères fonctionnels des greffons ainsi obtenus en comparant l'évolution de la glycémie après surcharge en glucose

- chez des animaux témoins maintenus à jeun ;
- chez des animaux pancréatectomisés ;
- chez des animaux porteurs de greffons et pancréatectomisés.

Dans chacun de ces lots, les rats sont mis à jeun 20 heures avant l'opération ; quatre heures après l'ablation du pancréas, chaque animal reçoit en injection sous-cutanée 2 ml d'une solution de glucose à 30 %. Le sang est prélevé par ponction cardiaque une heure après l'injection de glucose. La glycémie est évaluée par la technique au ferricyanure de potassium de l'appareillage Technicon. Le tableau ci-après shcématise les résultats obtenus.

Tableau 4

EPREUVE D'HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE

CHEZ DES ANIMAUX TEMOINS PANCREATECTOMISES

ET PANCREATECTOMISES PORTEURS D'HOMOGREFFES DE PANCREAS FOETAL

	durée de la greffe	glycémie	greffon
Témoins	0	1,50	0
Témoins injectés de glucose	0	3,60	0
Témoins pancréatectomisés injectés de glucose	0	7,20	0
pancréatectomisés greffés injectés de glucose	100 jours	7,20	fibreux
		7	fibreux
		4,95	îlôts endocrines
	72 jours	7	abcès
		5,10	un seul îlôt endocrine
	60 jours	5,5	petits îlôts endocrines

Dans nos conditions expérimentales, la présence d'îlôts endocrines au niveau du greffon tend à compenser très rapidement l'hyperglycémie provoquée et l'action du greffon est d'autant plus nette -quelle que soit la durée de la greffe- que l'importance du parenchyme endocrine est plus grande. Chez les animaux dépourvus de greffons (fibrose ou nécrose), la glycémie est égale à celle des animaux pancréatectomisés.

L'examen microscopique des greffons dans le cas des

animaux dont la glycémie tend à être réglée montre que le parenchyme pancréatique est constitué uniquement de cellules endocrines, incluses sous la capsule rénale et à peine séparées du parenchyme de l'organe par des fibrocytes et des fibres conjonctives de diamètre réduit. L'aspect de ces îlôts est légèrement hétérogène parce que certaines cellules ont un cytoplasme agranulaire alors que d'autres contiennent encore des inclusions glandulaires très fines.

Ces constatations d'ordre cytologique ont été retrouvées chez quatre animaux pancréatectomisés porteurs d'homogreffes qui ont été sacrifiés 24 heures après l'ablation du pancréas et qui ont survécu dans des conditions comparables à celles des animaux témoins.

°

° °

D I S C U S S I O N

Les constatations effectuées au cours des différentes expériences rapportées dans les chapitres précédents appellent des commentaires qui sont d'ordre technique ou qui concernent les résultats obtenus.

A - CAS DES GREFFES DE PANCREAS ADULTE

Si l'on applique strictement l'hypothèse de LAGUESSE sur le balancement acino-insulaire, le schéma expérimental le plus simple était de réaliser des greffes de parenchyme adulte. On peut, dans ces conditions, observer éventuellement des formes de passage d'un type de structure à l'autre, d'autant plus facilement que l'activité de l'ensemble se trouve perturbée. On peut également, hors de tout contrôle nerveux, préciser les conditions de différenciation du parenchyme endocrine.

Dans cette perspective, la technique également la plus simple était de réaliser des homogreffes à l'intérieur d'une même lignée d'animaux. Les homogreffes sont en effet le seul moyen qui permette d'obtenir des greffons en quantité indéfinie. Dans nos conditions expérimentales, malgré l'homogénéité de la souche, la réalisation de greffes au sein de la même fratrie sur des animaux mâles, nous avons observé de façon constante à partir du 7ème jour de l'expérience une réaction lympho-histiocytaire et conjonctive de l'hôte qui traduit une réaction immunitaire. Ce phénomène s'est, dans tous les cas, opposé de façon complète au développement du greffon, à sa différenciation selon le schéma

de LAGUESSE et, pour finir, à sa survie. Au sein de ces homogreffes, on n'observe pas d'images qui confirment la théorie du balancement.

Ces résultats nous ont amené à éliminer le facteur immunitaire en réalisant des autogreffes. Des recherches classiques (cf. GONET (58)) ont montré que l'autogreffe de pancréas chez le chien (HOUSSAY, DELEZENNE et Coll.) compense les effets de la pancréatectomie et règle la glycémie pendant sept heures au moins (67).

Si l'on se fonde toujours sur les conceptions de LAGUESSE l'évolution prolongée de ces autogreffes pose a priori plusieurs problèmes :

a) quel est le devenir des structures greffées et le mécanisme qui contrôle leur évolution ?

b) le fait que l'on implante des formations glandulaires exocrines et endocrines bien organisées et actives n'est-il pas incompatibe avec une éventuelle différenciation au sein du greffon ? - On peut se demander en effet si l'hypothèse du balancement ne nécessite pas l'existence d'un type cellulaire indifférencié ou dédifférencié, susceptible d'évoluer dans le sens exocrine ou dans le sens endocrine. Cette notion doit être rapprochée des observations concernant l'existence de "cellules mixtes" : les unes sont d'ordre expérimental (GIROD et CZYBA (56) 1965 chez le macaque), les autres sont d'ordre pathologique (FREXINOS et BUGAT (50) 1972 chez l'homme).

c) existe-t-il des facteurs qui inhibent -(l'activité trypsique par exemple)- la différenciation du pancréas endocrine ou des facteurs qui la stimulent (facteurs d'insulogénèse ou de néo-insulogénèse) M. ARON (8-9), E. ARON (6), LOUBATIERES (88), ZAGURY (138), CHU et Coll. (36).

Les travaux rapportés ont cherché à répondre à chacune de ces questions.

a) dans nos conditions expérimentales, la greffe sous-capsulaire rénale d'un fragment de la queue du pancréas de l'animal permet d'observer à court terme le maintien simultané des structures exocrines et endocrines. Si l'expérience est prolongée pendant plusieurs semaines, les greffons sont le siège de remaniements importants : la disparition progressive de l'activité exocrine s'accompagne d'une prolifération discrète des cellules acineuses et des cellules de la paroi des tubes mais on n'observe jamais la constitution d'îlôts endocrines à partir de ces zones en voie de croissance. Les îlôts endocrines inclus dans la greffe au moment de sa mise en place involuent progressivement sans donner naissance à des structures exocrines même non fonctionnelles.

Ainsi au sein des autogreffes, comme au sein des homogreffes, la théorie du balancement ne peut être confirmée. L'aspect du parenchyme rénal au contact du greffon, son intégrité, quelle que soit la durée de la greffe, invitent à penser que ces phénomènes ne sont pas dûs à la libération d'enzymes protéolytiques. On peut admettre que la différenciation du pancréas n'est pas contrôlée par le système nerveux (GENTES 1902 (54), VAN CAMPENHOUT 1927 (30)) végétatif et autonome (voir ci-après).

b) nous avons, d'après ces résultats, émis l'hypothèse que la néoformation d'îlôts endocrines nécessite l'existence d'un stade caractérisé par la présence de cellules indifférenciées ou dédifférenciées analogues à celles que l'on observe au niveau des zones ou des bourgeons de régénération ou de cicatrisation (cf. ABELOOS 1932 (3), WOLFF et STEFAN-DUBOIS (135) 1947, CHAPRON (35) 1972). Pour provoquer l'apparition d'un tel état, nous avons cherché à faire disparaître l'organisation glandulaire exocrine et endocrine au moment de la greffe. Pour ce faire, nous avons désorganisé par broyage l'armature conjonctive du pancréas, nous l'avons dissociée par tamisage, nous avons -par trypsinisation- préparé des suspensions de cellules exocrines et endocrines.

Quel que soit l'artifice utilisé, les cellules exocrines conservent leurs potentialités : même dans le cas des greffes de suspension cellulaire après trypsinisation, elles se réorganisent au contact du rein pour reconstituer des structures acineuses et tubulaires. L'insulogénèse n'est pas favorisée par ces procédés. D'autre part, les cellules endocrines demeurent groupées en amas sans qu'il soit possible d'observer leur participation à la constitution de tubes ou d'acini. C'est un argument supplémentaire qui va à l'encontre de la théorie du balancement de LAGUESSE à moins que ce phénomène soit - dans nos conditions expérimentales- suspendu par l'existence d'un facteur inhibiteur ou par l'absence d'un facteur insulogène.

c) parmi les facteurs inhibiteurs éventuels, on peut classer les précurseurs de la trypsine qui se trouvent en abondance dans le cytoplasme des acini greffés. Ils disparaissent progressivement au sein de l'implant puisque les acini et les tubes deviennent peu à peu kystiques. Cette hypothèse ne semble pas pouvoir être retenue : en effet, deux arguments peuvent être tirés de nos constatations : au terme des greffes de longue durée, bien après la disparition des substances exocrines, on n'observe pas d'insulogénèse ; au cours d'expériences plus courtes, l'administration continue d'un inhibiteur de la trypsine ne modifie pas l'évolution des greffons en favorisant l'évolution d'une néo-insulogénèse.

Plusieurs facteurs stimulants de l'insulogénèse et de l'insulino-sécrétion ont été décrits, ce qui nous a incité à tester leur action éventuelle sur les autogreffes. Le plus anciennement connu de ces facteurs est la Thyroxine. M. ARON (8-9), SENDRAIL (117), BIMES (cité par ARON) (6), ont souligné l'importance de cette hormone et son action sur la multiplication des îlôts de LANGERHANS et leur hypertrophie au sein du pancréas en place. Dans nos greffes, aucune action de ce type n'a pu être mise en évidence non plus qu'au niveau de l'organe en place.

Parmi les facteurs les plus récemment utilisés, la Chlorpropamide est -selon LOUBATIERES- capable de provoquer l'apparition de cellules B à partir de cellules centro-acineuses et à partir des cellules de la paroi des tubes : elle stimulerait en même temps l'insulino-sécrétion. Au niveau de nos greffons, cette substance n'a pas provoqué de néo-insulogénèse, elle n'a pas modifié l'évolution des structures exocrines.

Le dernier facteur classiquement considéré comme insulogène est d'ordre métabolique. Selon MANKOWSKI (92) 1900, c'est le taux du glucose circulant qui règle dans le cadre de la théorie de LAGUESSE l'apparition et l'évolution des ilôts. Effectivement, dans nos conditions expérimentales, la suralimentation des animaux en glucose semble déclencher au voisinage des tubes excréteurs une insulogénèse active qui se traduit par la présence de cellules en mitose au niveau d'ilôts cytologiquement fonctionnels. Tout se passe comme si la surcharge glucidique de l'organisme déclenchait au niveau des structures exocrines une prolifération cellulaire suivie d'une différenciation endocrine des éléments néoformés. Ce phénomène révèle des potentialités des cellules exocrines sans expliquer le mécanisme de leur évolution. Dans le cadre ce nos expériences, aucun argument ne permet d'envisager que cette évolution soit réversible. On peut admettre que cette néo-insulogénèse correspond aux faits rapportés par DAMERON (1950) (41) et WOODRUFF (1952) (137), HOUSE (1958) (66) : les greffes de parenchyme endocrine survivent et fonctionnent d'autant mieux que la glande de l'hôte est insuffisante.

Dans le cadre de nos expériences de greffes de pancréas adulte, il est ainsi établi que sous l'influence d'une hyperglycémie, on observe au sein des autogreffes une néo-insulogénèse à partir de structures exocrines : tout autre type de stimulation est inopérant. Mais dans aucune de nos séries expérimentales, il n'apparaît jamais de modifi-

cations histologiques ou cytologiques qui puissent traduire la théorie de LAGUESSE, c'est-à-dire l'existence d'une transformation acino-insulaire réversible.

B - CAS DES GREFFES D'EBAUCHES PANCREATIQUES

L'existence des réactions immunitaires dans le cas des homogreffes de pancréas adulte, l'impossibilité d'obtenir dans des conditions physiologiques une néo-insulogénèse qui corresponde à l'une des phases au moins du balancement de LAGUESSE nous ont amené à étudier le devenir de greffons constitués par des ébauches de pancréas prélevées chez des foetus d'âge croissant, du 16ème au 20ème jour de la grossesse. On sait en effet depuis P. BERT (1864) que les greffons embryonnaires sont acceptés et fonctionnent dans l'organisme adulte. Ces greffes homotypiques ont été réalisées suivant deux modalités, soit directement -aussitôt après le prélèvement de l'ébauche-, soit indirectement -après passage en culture organotypique selon la méthode inaugurée par GAILLARD et Coll. (73), en ce qui concerne les glandes parathyroïdes.

Les greffes directes nous ont permis de mettre en évidence qu'une ébauche trop jeune -16ème jour de la grossesse- est incapable de donner naissance à des structures endocrines typiques. Ce fait est en accord avec les constatations effectuées par WATERMAN en 1936 (129) : cet auteur affirme que des ébauches pancréatiques très jeunes implantées chez le lapin adulte voient leur développement "inhibé" par l'organisme du receveur. Nos constatations ne semblent pas concorder avec les observations effectuées in vitro par ZAGURY (138) en 1961. Cet auteur constate la formation d'îlôts endocrines dans des cultures d'ébauches pancréatiques dont il évalue l'âge à 16 jours. Il se trouve que son procédé pour dater la grossesse ne correspond pas au nôtre et présente selon ses propres dires une incertitude de 24 heures au moins : il admet un délai de deux jours pour juger de la date de l'insémination.

Nos expériences nous ont par contre permis de mettre en évidence que l'ébauche pancréatique prélevée au 17ème jour de la grossesse, dépourvue de structures endocrines au moment de la greffe, donne naissance de façon constante, après sa mise en place sous la capsule rénale, à des îlôts de type langerhansien cytologiquement fonctionnels. L'existence de ces îlôts est limitée par une réaction immunitaire de l'hôte. Ce fait montre que, entre le 16ème et le 17ème jour de la grossesse, chez le rat, l'ébauche pancréatique devient "compétente" : elle peut donner naissance à des structures endocrines sous l'influence d'un facteur insulogène qui se trouve dans l'organisme de l'animal adulte. (voir ci-après)

Lorsque les ébauches greffées ont été prélevées chez des foetus plus âgés, tout se passe comme si chacune des structures glandulaires -exocrine ou endocrine- était fixée en ce qui concerne son devenir : on n'observe pas de néo-insulogénèse ; les greffons se comportent comme des greffons de parenchyme adulte : ils ont des caractères antigéniques d'autant plus marqués qu'on approche du terme de la grossesse. Ces constatations s'accordent mal avec celles qui ont été effectuées par DUBOIS et GONET (46) 1961 : dans le cas de greffes intratesticulaires, ils constatent une survie prolongée des ébauches implantées : les greffons riches en tissu endocrine manifestent une activité hypoglycémiante. Cette discordance est peut-être due au site d'implantation. ARON, MARESCAUX et PETROVIC (11) ont en effet souligné en 1957 que le parenchyme testiculaire est très favorable à la survie des homogreffes. Les images obtenues par GONET ne permettent pas d'affirmer que les structures endocrines observées au terme de son expérience sont le résultat d'une néo-insulogénèse ou même d'un développement des structures greffées : les îlôts de LANGERHANS sont volumineux dans le pancréas de l'animal nouveau-né. Leur persistance intratesticulaire est un argument supplémentaire qui s'oppose à l'hypothèse d'une éventuelle transformation insulo-acineuse.

Dans nos expériences, l'apport de Cortisone n'a pas modifié l'évolution des greffons bréphoplastiques. Ce phénomène s'accorde mal avec la constatation effectuée in vitro par ZAGURY. La réalisation de cultures mixtes d'ébauches pancréatiques associées à des fragments surrénaliens lui a permis -dans les mêmes conditions de datation de la grossesse signalée ci-dessus- d'observer une différenciation cellulaire endocrine et l'apparition de cellules B. Il attribue ce phénomène à l'influence des explants surrénaliens qui agiraient peut-être alors par une substance différente de la Cortisone.

La création chez le receveur d'un état d'hyperglycémie ne déclenche pas non plus la différenciation d'ébauches pancréatiques prélevées au 16ème jour. Ce phénomène est important, car il amène à penser que l'insulogénèse embryonnaire n'est pas déclenchée par des modifications du taux de glucose dans l'organisme. Elle semble nécessiter l'intervention d'un facteur supplémentaire puisque l'on n'observe pas -même lorsque l'ébauche est plus âgée, 18 jours- au niveau des greffes bréphoplastiques, l'hypertrophie insulaire que l'on trouve au niveau des autogreffes de pancréas adulte.

Lorsque les greffes ont été implantées selon la technique de GAILLARD (52) 1957, après passage en culture, plusieurs faits méritent d'être soulignés.

Les caractères antigéniques des greffons sont diminués de façon telle que des ébauches prélevées au 17ème jour survivent pendant plus de 100 jours. Au terme de ces expériences, la réaction lympho-histiocytaire de l'hôte est très limitée.

Les greffons sont constitués en majeure partie de structures endocrines souvent bien vascularisées. Les formations exocrines tendant à disparaître.

Les caractères cytologiques de ces greffons indiquent qu'ils sont fonctionnels comme le prouvent les dosages de glucose dans le sang après pancréatectomie et hyperglycémie provoquée suivant une technique adaptée de OTTOLENGHI (104) 1973. Le greffon endocrine est capable de suppléer la déficience du pancréas de l'hôte.

Dans nos conditions expérimentales, à partir d'une ébauche indifférenciée prélevée au 17ème jour de la grossesse, on obtient une structure endocrine non antigénique aussi active et efficace que l'autogreffe de pancréas adulte de HOUSSAY, que la greffe de pancréas de nouveau-né réalisée par DUBOIS et GONET, ou la greffe d'îlôts isolés par dissection selon LACY et Coll. (76) et implantés chez l'animal qui subit un traitement immunosuppresseur. Notre technique présente l'avantage qu'elle permet de créer un pancréas endocrine ectopique et annexe, accessoire chez l'animal normal.

C - INSULOGENESE IN VITRO

Les expériences d'homogreffes bréphoplastiques ont mis en évidence que la différenciation endocrine d'une ébauche pancréatique compétente paraît être sous la dépendance d'un facteur insulogène présente chez l'animal adulte normal. Ce facteur n'est pas le taux de glucose dans le sang, il n'est pas non plus la Cortisone.

Pour démontrer l'existence de ce facteur et l'identifier, la méthode la plus directe est de cultiver des ébauches pancréatiques compétentes sur des milieux de composition connue et de complexité croissante. Ces cultures réalisées sur des milieux artificiels montrent que, dans ces conditions, l'insulogénèse ne s'effectue pas de façon spontanée. L'apport des différentes substances considérées comme insulogènes ne modifie pas l'évolution des explants. Ce phénomène ne semble pas pouvoir être attribué au fait que les milieux utilisés sont trop pauvres. En effet, sur le

plus simple d'entre eux -milieu C de WOLFF- on observe de nombreuses mitoses. De plus, l'addition au milieu artificiel de plasma d'animal adulte ne modifie pas l'organisation des explants qui sont toujours dépourvus de cellules d'aspect endocrine alors qu'existent des structures acineuses.

La réalisation de cultures mixtes, hypophyse-pancréas, foie-pancréas et rein-pancréas, suggère que, dans aucun de ces organes, ne se trouve localisé un facteur insulo-gène. L'évolution des greffons sous-capsulaires rénaux aurait pu cependant faire supposer qu'il en existait un dans le parenchyme rénal.

Par contre, les cultures effectuées sur sérum et milieu C développent simultanément des structures exocrines et de nombreux amas"endocrines"qui s'organisent autour des éléments mésenchymateux de l'ébauche. Ce résultat suggère que le facteur insulogène est circulant et présent chez l'animal normal. La disposition des îlôts endocrines autour du mésenchyme contenu dans les explants permet de penser que -selon les constatations effectuées d'autre part chez les oiseaux par DIETERLEN-LIEVRE (45)- la différenciation pancréatique est liée à des interactions qui existent entre l'ébauche épithéliale et le mésenchyme au sein duquel elle se développe.

Les constatations que nous avons effectuées en culture organotypique complètent et perfectionnent les notions qui ont pu être établies au niveau de cultures exclusivement cellulaires par différents auteurs et notamment par WESSELS et RUTTER 1969, SPOONER, WALTER et RUTTER (119) 1970, WESTMANN, ANDERSSON, HELLERSTROM et PETERSON (131) 1970, LAMBERT, BLONDEL, CANAZAWA, ORCI et RENOLD 1971 (82). Ces auteurs ont montré que les cellules isolées peuvent présenter des signes d'insulino-sécrétion.

°

° °

R E S U M E E T C O N C L U S I O N

Les expériences ainsi rapportées amènent à concevoir:

a) que, au sein de greffes de parenchyme pancréatique adulte, chez des animaux normaux, aucun argument n'est favorable à l'existence d'un phénomène de balancement exocrine == endocrine réversible ;

b) que ce phénomène n'apparaît pas non plus lorsque les greffes sont constituées à partir d'une ébauche pancréatique qui se différencie principalement dans le sens endocrine après son implantation sous la capsule du rein ;

c) que l'insulogénèse peut apparaître en dehors de l'aire normale de différenciation du pancréas, en dehors de tout contrôle nerveux, à partir de pancréas non différencié mais devenu "compétent" au seuil du 17ème jour de la vie intra-utérine dans le cas de la souche de rats utilisés ;

d) que ce phénomène d'insulogénèse ectopique dans l'organisme est confirmé par le fait qu'on peut l'obtenir également in vitro sur milieu approprié ;

e) que cette insulogénèse évolue sous le contrôle d'un facteur circulant sérique qui existe chez l'animal normal et que l'on peut apporter au milieu de culture où il demeure stable ;

f) que les greffons pancréatiques obtenus après culture sont porteurs d'îlôts de LANGERHANS volumineux qui se sont différenciés et développés au sein de la greffe, sont pratiquement dépourvus d'antigénicité, fonctionnels, et actifs sur la régulation de la glycémie.

°

° °

BIBLIOGRAPHIE

1 - ABEL J.J. GEILING E.H.K.

Research on insulin.

Is insuiin an unstable sulfur compound.

J. PHARMACOL AND EXPER. THERAP. BALT 1925-26 25 423-448

2 - ABEL J.J.

Some thoughts and experiments in relation to the hormone.

The crystallisation of insulin.

J. BIOL. CHEM. 1926 6 108-114

3 - ABELOOS M.

La régénération et les problèmes de la morphogénèse.

GAUTIER VILLARS ED. PARIS 1932

4 - ACHARD RIBOT BINET L.

Action des extraits d'organes sur l'hyperglycémie provoquée.

C.R. SOC. BIOLOGIE 1919 788-793

5 - AMBARD L.

Glycémie et glycosurie.

REV. DE CHIR. PARIS 1919 VII 764

6 - ARON E.

Problèmes quotidiens du diabète 2ème série

LABORATOIRES SERVIER ED. ORLEANS 1972

7 - ARON M.

L'évolution morphologique et fonctionnelle des îlôts endocrines du pancréas embryonnaire.

ARCH. ANAT. HISTOL. EMBRYO. 1922 2 69 - 113

8 - ARON M.

Le fonctionnement du pancréas chez les larves d'amphibiens.

C.R. SOC. BIOL. 1928 99 213-214

9 - ARON M.

Corrélation fonctionnelle entre la glande thyroïde et le pancréas endocrine chez les larves d'amphibiens.

C.R. SOC. BIOL. 1928 99 215-216

10 - ARON M.

Recherches histophysiologiques sur le fonctionnement et les corrélations des glandes endocrines embryonnaires chez les vertébrés.

BULL. BIOL. FRANCE ET BELGIQUE 1931 65 4 438-521

11 - ARON M. MARESCAUX J. PETROVIC A.

Greffes homoplastiques chez les mammifères.

In : la biologie des homogreffes.

COLLOQUES INTER. CNRS. PARIS 1957 25-34

12 - BANTING F.G. BEST C.H. COLLIP J.B. MAC LEOD J.JR.

Physiological action of insulin.

TRANS. ROY. SOC. CAN. 1922 16 1

13 - BARGMANN W.

Die Langernansschen Inseln des Pankreas.

HANDBUCH DER MIKROKOPISCHEN ANATOMIE 1939 6 2 196-288

14 - BARGMANN W.

Uber die neurosekretorische Verknöpfung von Hypotalamus und Neurohypophyse.

Z. ZELLFORSCH 1949 34 5 610-634

15 - BARNETT R.J. MARSHALL R.B. SELIGMAN A.M.

Histochemical demonstration of insulin in the islets of Langerhans.

ENDOCRINOLOGY 1955 57 419-438

16 - BENNETT J.

Leçons cliniques sur les principes et la pratique de la médecine.

PARIS 1873

17 - BENSLEY R.R.

Studies on the pancreas of the Guinea pig.

AM. JOURN. ANAT. 1911 12 297

18 - BENSLEY R.R.

Structure and relations-ships of the islets of Langerhans.

HARVEY LECTURES 1915 10 251
J.B. LIPPINCOTT PHILADELPHIA

19 - BERJON J.J. MEUNIER J.M.

Greffe de pancréas foetal chez l'adulte.

BX MEDICAL 1972 13 1583-1588

20 - BERJON J.J. MEUNIER J.M.

Evolution de greffes de pancréas foetal implanté chez l'animal adulte après culture organotypique sur milieu artificiel.

BX MEDICAL 1972 20 2723-2726

21 - BERNARD CL.

Influence du système nerveux sur la production du sucre dans l'économie animale.

EXTRAITS DES PROCES-VERBAUX DE LA SOCIETE PHILOMATIQUE 1849 49-51

22 - BERNARD CL.

Influence de la section des pédoncules cérébelleux moyens sur la composition de l'urine.

C.R. SOC. BIO. 1850 1 14

23 - BERNARD CL.

Chiens rendus diabétiques.

C.R. SOC. BIOL. 1850 1 60

24 - BERNARD CL.

Leçons sur le diabète.

1877 PARIS 1965 REEDITION TCHOU EDIT.

25 - BERT P.

Expériences et considérations sur la greffe animale.

JOURN. ANAT. PHYSIOL. NORM. PATH. 1864 1 69 87

26 - BJORKMANN N. HELLERSTROM C. HELLMANN B. PETERSON B.

The cell types in the endocrine pancreas of the human foetus.

Z. ZELLFORSCH 1966 72 4 425-445

27 - BLOOM W.

A new type of granular cell in the islets of Langerhans of man.

ANAT. REC. 1931 49 4 363-371

28 - BROWN SEQUARD

Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules frais de cobaye et de chien.

29 - BROWN SEQUARD

Effets des injections sous-cutanées du liquide testiculaire.

Trois articles à la suite.

C.R. SOC. BIOL. 1889 415-420 et 430

30 - CAMPENHOUT Van E.

Contribution à l'étude de l'histogénèse du pancréas chez quelques mammifères.

Les complexes sympathico-insulaires.

ARCH. DE BIOL. 1927 37 121-171

31 - CAMPENHOUT Van E.

Effets protecteurs du versene vis-à-vis de l'action des sels de cobalt sur le pancréas endocrine.

C.R. SOC. BIOL. 1956 150 1509-1511

32 - CAWLEY Th.

Observation singulière sur un diabète.

LONDON MED. JOURNA.
JOURN. DE MEDEC. ET CHIR. PHARM.
Traduction M. ASSOLLANT 1788-1789 79 211-238
9 286-311

33 - CAPUANO C.

Le pancréas embryonnaire du rat.

ARCH. ANAT. PATH. 1971 19 4 367-382

34 - CHABANIER H.

Un critère pratique du diabète.

La glycémie critique.

PRESSE MEDICALE 1920 25 242-244

35 - CHAPRON C.

Recherches sur le rôle et le mode d'action des amines biogènes dans la régénération des oligochètes.

BULL. SOC. ZOOL. FRANCE 1972 97 3 327-331

36 - CHU P.C. CONWAY M.J. KROUSE H.A. GOODNER C.J.

The pattern of plasma insulin and glucose to teals and fasting during chlorpropamide therapy.

ANN. INTERN. MED. 1968 68 4 757

37 - CONKLIN J.L.

Ontogenesis of the human foetal pancreas.

AMER. JOURN. ANAT. 1962 111 2 181-193

38 - COUPLAND R.E.

The innervation of pancreas of the rat, cat and rabbit as revealed by the cholinesterase technique.

J. ANAT. LONDON 1958 92 1 143-149

39 - CULLEN

Eléments de médecine pratique.

trad. par BOSQUILLON, BARROIS LE JEUNE et MEQUIGNON L'AINE ed. PARIS 1785-1787

40 - DALE

On the "islets of Langerhans" in the pancreas.

PHILOSOPH. TRANS. OF THE ROY. SOC. 1905 B vol. 187

41 - DAMERON J.T.

Homologous transplantation of endocrine tissues.

SURG. FORUM 1950 570-578

42 - DEBEYRE A.

Les bourgeons pancréatiques accessoires tardifs.

Thèse LILLE 1904

43 - DE DUVE C. BERTHET J.

Le glucagon.

RAPPORT A LA 4ème REUNION DES ENDOCRINOLOGISTES DE LANGUE FRANCAISE 1957

44 - DIETERLEN-LIEVRE F.

Etude morphologique expérimentale de la différenciation du pancréas chez l'embryon de poulet.

BULL. BIOL. FRANCE ET BELGIQUE 1965 99 1 116

45 - DIETERLEN-LIEVRE F.

Relations épithélio-mésenchymateuses dans la différenciation du pancréas chez l'embryon de poulet.

ANN. BIOL. 1970 9 5-6 21-26

46 - DUBOIS A.M. GONET A.

Effets de la greffe de pancréas foetal sur la glycémie et la régénération des îlôts de Langerhans de rats alloxanisés ou pancréatectomisés.

ACTA. ANAT. (BASEL) 1960 41 836-840

47 - DUNN J.S. SHEEHAN M.L. M.C. LETCHIE N.G.B.

Necrosis of islets of Langerhans produced experimentaly.

LANCET 1943 245 484-487

48 - EVERETT J.W.

Luteotrophic function of autografts of the rat hypophysis.

ENDOCRINOLOGY 1954 54 685-690

49 - FERNER H. STOECKENIUS W.

Die Cytogenese des Insel-systems beim Menschen.

Z. ZLLEFROSCH 1950 35 12 147-175

50 - FREXINOS J. BUGAT R.

Les cellules mixtes au cours des pancréatites chroniques.

Etude ultrastructurale.

PATH. BIO. 1972 20 765-774

51 - FUJITA T.

Histological studies on the neuroinsular complex in the pancreas of some mammals.

Z. ZELLFORSCH 1959 50 1 94-109

52 - GAILLARD P.J.

Greffe à l'homme de tissu cultivé in vitro.

BIOLOGIE DES HOMOGREFFES 157-165
COLL. CNRS. 78 1957 PARIS

53 - GANTER P. JOLLES G.

Histochimie normale et pathologique t. I et II

GAUTHIER VILLARS ED. PARIS 1969

54 - GENTES L.

Sur les terminaisons nerveuses des îlôts de Langerhans du pancréas.

C.R. SOC. BIOL. 1902 202

55 - GIROD C.

Leçons sur les glandes endocrines.

SIMEP ED. LYON 1968

56 - GIROD C. CZYBA J.C.

Quelques données de cytologie et de morphologie expérimentale des îlôts de Langerhans chez le singe macacus Irus F. Cuv.

C.R. ASS. ANAT. 1965 125 674-695

57 - GLEY E.

Action des extraits de pancréas sclérosé sur des chiens diabétiques.

Pli cacheté 20.2.1905 :

Sur la sécrétion interne du pancréas et son utilisation thérapeutique.

C.R. SOC. BIOL. 1922 87 1322-1325

58 - GONET A.

Correction du diabète expérimental du rat par la greffe pancréatique foetale.

Thèse Médecine 1961 GENEVE

59 - HARD W.L.

The origine and differenciation of the alpha and beta celles in the pancreatic islets of the rat.

AMER J. ANAT. 1944 75 369-403

60 - HEDON E.

Sur la pathogénie du diabète consécutif à l'extirpation du pancréas.

ARCH. PHYSIOL. 1892 2 245-258

61 - HELLMANN B.

The development of the mammalian endocrine pancreas.

BIOL. NEONAT. 1965-1966 9 263-278

62 - HELLMANN B. HELLERSTROM C.

The islets of Langerhans in ducks and chicken with special reference to the argyrophil reaction.

Z. ZELLFROSCH 1960 52 278-290

63 - HELLMANN B. HELLERSTROM C.

The specificity of the argyrophil reaction in the islets of Langerhans in man.

ACTA ENDOCRIN. 1961 36 1 22-30

64 - HELLMANN B. WALLGREN A. HELLERSTROM C.

Cellular composition of the islets of Langerhans in the bull frog rana catesbiana.

ACTA ANAT. 1962 48 1-2 149-155

65 - HELLMANN B. HELLERSTROM C. WALLGREN A.

Two types of islets alpha cells in differents parts of the pancreas of the dog.

NATURE LONDON 1962 194 1201-1202

66 - HOUSE EL. BURTON C. COOPER M. ANDERSON E.

The implantation of neonatal pancreas in to cheek pouch of the alloxan diabetic hamster.

ENDOCRINOLOGY 1958 63 389-391

67 - HOUSSAY B.A.

Physiologie humaine.

FLAMMARION ED. PARIS 1950

68 - ITO T. TAKAHASHI Y. UMARARA Y.

Etude des ilôts de Langerhans chez l'homme adulte.

ARCH. HISTOL. JAP. 1961 (RES. ALLEMAND) 22 1
53 75

69 - JAMBON M. CHAPTAL J. VEDEL A. SCHAPP J.

Accidents hypoglycémiques graves par un sulfamide thiodiazol, le VK 57 ou 2 254 RP.

MONTPELLIER MED. 1942 21-22 441 442

70 - JAMBON M. CAZERGES P. METROPOLITANSKI JH.

Etude du métabolisme du sulfo-iso-propyl-thiodiazol VK 57 ou 2 2254 RP chez le sujet sain et en cours de traitement.

Comportement de la glycémie.

MONTPELLIER MED. 1942 21-22 489-490

71 - JIRASEK JE.

Die Localisation BZW Beteilung Einiger Enzyme und P.A.S. positiver Substanzen bei Pankreas Histogenese.

ACTA HISTOCHEM. ALLEM. 1965 20 1-4 161-165

72 - KARDASEWITCH

Ein Fall von Decapitation eines Embryo.

DEUTSCH ZTCH 1926 9 48-53

73 - KOOREMAN P.J. GAILLARD P.J.

Therapeutic possibilities of grafting cultivated embryonic tissues in man. The parathyroid gland in cases of post operative tetany.

ARCH. CHIRURG. NEERLANDICUM 1950 326-354

74 - KUSTER

Zur Entwicklungs-geschichte des Langerhanschen Inseln im Pankreas beim menschlichen Embryo.

ARCH. FUR MIKR ANAT. UND ENTWICKL. 1904 64 157-167

75 - LACY PE.

Electron microscopic identification of different cell types in the islets of Langerhans of the Guinea pig rabbit and dog.

ANAT. REC. 1957 128 255-267

76 - LACY P. BALLINGER H.

Transplantation réussie d'îlôts de Langerhans

Tribune médicale 1972 181 7-8

77 - LACY PE. YOUNG DA. FINK CJ.

Studies on insulin secretion in vitro from isolated islets of the rat pancreas.

ENDOCRINOLOGY 1968 83 1155-1161

78 - LAGUESSE E.

Sur la formation des îlôts de Langerhans dans le pancréas.

C.R. SOC. BIOL. 1893

79 - LAGUESSE E.

Recherches sur l' histogénie du pancréas chez le mouton.

J. DE L'ANAT. et de la PHYS. 1895-1896 31 475 32 171

80 - LAGUESSE E.

Le pancréas.

REVUE GENERALE D'HISTOLOGIE 1906 288

81 - LAGUESSE E.

Preuve expérimentale du balancement des îlôts endocrines du pancréas.

J. PHYSIOL. ET PATH. GEN. 1911 1 - 18

82 - LAMBERT AE. BONDEL B. KANAZAWA Y. ORCI L. RENOLD AE.
Monolayer cell culture of neonatal rat pancreas.
ENDOCRINOLOGY 1971 90 239-248

83 - LANCEREAUX
Notes et réflexions à propos de deux cas de diabète sucré avec altération du pancréas.
BULL. ACAD. MED. 1877 1215-1240

84 - LANE MA.
The cytological characters of the areas of Langerhans.
AM. JOURN. ANAT. 1907 409

85 - LANGERHANS
Beiträge zur microskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse.
MED. INAUG. DISSERT. BERLIN 1869

86 - LEPINE R. BARRAL
Ferment glycolytique.
C.R. SOC. BIOL. 1891

87 - LIU HM. POTTER EL.
Development of the human pancreas.
ARCH. PATHOL. 1962 74 5 439-452

88 - LOUBATIERES A.
Analyse de l'action BETA cytotrope des sulfamides hypoglycémiants.
LA PRESSE MEDICALE 1960 68 38 1421-1443

89 - LOUBATIERES A. GOLDSTEIN L. METROPOLITANSKI JH. SCHAPP J.
Comm. 43ème Congrès Méd. Aliénistes et neurologistes de FRANCE et des pays de langue française.
28-30 octobre 1942 MONTPELLIER

90 - MALAISSE W. MALAISSE-LAGAE F.
Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel-Dieu.
1969 131-138

91 - MALAISSE W. MALAISSE-LAGAE F.
Le diabète expérimental par agents chimiques.
LA NOUVELLE PRESSE MEDICALE 1972 1 7 473-478

92 - MANKOWSKI

Sur la microphysiologie du pancréas.

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE GENERALE DE KIEW 1900
NOUVELLES DE L'UNIVERSITE DE KIEW 1900-1901 41

93 - MANTEGAZZA P.

Della vitalita dei zoospermi della rana e del trasplantemente del testiculi da un animal all atro.

GAZ MED. ITAL. LOMB. MILANO 1860 215-217 4 5

94 - MAY R.M.

La transplantation animale.

GAUTHIER VILLARS 1932 ED. PARIS

95 - MAY R.M.

La greffe.

GALLIMARD 1952 ED. PARIS

96 - MEHRING Von J. MANKOWSKI O.

Diabètes mellitus nach Pankreasextirpation.

ARCH. FUR EXP. PATH. UND PHARM. 1889 26 5-6 371

97 - MEUNIER J.M. BOUSQUET J.

Culture organotypique sur milieu naturel et artificiel de fragments d'hypophyse de rat adulte.

C.R. SOC. BIOL. 1962 156 65-67

98 - MIRONESCU

Uber die Entwicklung der Langerhanschen Insein bei menschlichen Embryonen.

ARCH. FUR MIKR ANAT. UND ENTWICKL. 1910 75 322

99 - MONTUORI

Sur l'action glyco-inhibitrice de la sécrétion pancréatique.

ARCH. ITAL. BIOL. 1895 TURIN 24 280-286

100 - MORELLE U.

Action du chlorure de nickel sur les llôts endocrines du pancréas chez le cobaye.

C.R. SOC. BIOL. 1953 147 1649-1658

101 - MUNGER BL. CARAMIA F. LACY PE.

The ultrastructure fasis for the identification of cell types in the pancreatic islets.

Z. ZELLFORSCH 1965 67 6 776-798

102 - NICOLAS GUEUDEVILLE

Recherches et expériences médicales et chimiques sur le diabète sucré de la phtisurie sucrée.

INSTITUT NATIONAL 1803 14 Fructidor an X PARIS an XI

103 - ORCI L. LAMBERT AE. ROUILLER CH. RENOLD AE. SAMOLS E.

Evidence for the presence of a cell in the endocrine foetal pancreas of the rat.

HORM METAB. RES. 1969 1 108-110

104 - OTTOLENGHI A. CHIAMENTI C. BOSELLO O. BETTILI G.

Régénération du pancréas.

LA NOUVELLE PRESSE MEDICALE 1973 2-3 153-157

105 - PEARCE

The development of the islets of Langerhans in the human embryo.

AMERC. JOURN. OF ANAT. 1903 2 445

106 - PERRIER H.

Evolution de l'ultrastructure du pancréas chez le foetus de rat.

DIABETOLOGIA 1970 6 605-615

107 - PERRIER H. PORTE A. JACQUOT R.

Présence de cellules A dans le pancréas foetal de rat.

C.R. ACAD. SC. 1969 269 841-843

108 - PINEL Ph.

Nosographie philosophique ou la méthode de l'analyse appliquée à la médecine.

BROSSON 1798 1813 5ème ED. PARIS

109 - POUMEAU-DELILLE G.

Techniques biologiques en endocrinologie expérimentale chez le rat.

MASSON ED. PARIS 1954

110 - RAYER

Traité des maladies des reins.

PARIS 1839-1841

111 - RENAUT J.

Sur les organes lymphoglandulaires et le pancréas des vertébrés.

C.R. ACAD. SC. 1889 89 247

112 - RENAUT J.

Traité d'histologie pratique.

LECROSNIER ED. PARIS 1899

113 - ROBB P.

The development of the islets of Langerhans in the human foetus.

QUART J. EXPER. PHYSIOL. 1961 46 4 335-343

114 - ROLLO J.

Traité du diabète, des affections gastriques et des maladies qui en dépendent.

TRADUIT DE L'ANGLAIS PAR LE CITOYEN ALYOU 1798 PARIS an VI

115 - SATO T. HERMAN L. FITZGERALD P.J.

The comparative ultrastructure of the pancreatic islets de Langerhans.

GEN. COMP. ENDOCRINOL. 1966 7 132-157

116 - SAUVAGE

Nosologie méthodique ou distribution des maladies en classes, en genres et en espèces suivant la méthode des botanistes.

HUIT VOLUMES LYON 1772

117 - SENDRAIL M. BAZEX A.

Critères cytologiques d'activité fonctionnelle du pancréas endocrine.

ANNA. ENDOCRINOL. 1945 6 177-194

118 - SCOTT E.L.

On the influence of intravenous injections of an extract of the pancreas of experimental pancreatic diabetes.

AMERIC. J. PHYSIOLOGY 1912 29 306 320

119 - SPOONER B.S. WALTHER B.T. RUTTER W.J.

The development of the dorsal and ventral mammalian pancreas in vivo and in vitro.

THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY 1970 47 235-246

120 - SSOBOLEW LW.

Uber die Struktur der Bauchespeicheldrüse unter gewissen pathologischen Bedingungen.

ZENT. BLATT. FUR ALG. PATH. UND PATH. ANAT. 1900 11 202-203

121 - SSOBOLEW LW.

Zur normalen und pathologischen Morphologie der Innerensekretion der Bauchespeicheldrüse.

WIRCHOWS ARCHIN. ZUR PATH. ANAT. PHYSIOL. 1901 168 91-128

122 - STAUB A. SINN LC. BEHRENS OK.

Purification and cristallisation of glucagon.

J. BIOL. CHEM. 1955 214 619-632

123 - THERET C.

La neurosécrétion des complexes neuro-insulaires, ses variations sous l'action de stress expérimentaux.

ANN. ENDOCRINOL. 1961 22 3 312 322

124 - THOMAS B.

Cellular compenents of the mammalian islets of Langerhans.

AMER. J. ANAT. 1937 62 31 57

125 - TROWELL CA.

The culture of nature organs in synthetic medium.

EXP. CELL. RESEARCH 1959 16 118 147

126 - VEBER A.

Variations dans le mode de formation des ébauches pancréatiques ventrales chez le canard.

C.R. SOC. BIOL. 1903 4 581-583

127 - VERNE J.

Formule cellulaire des îlôts de Langerhans et stéatose hépatique au cours de l'intoxication par l'ammanite phalloïde.

C.R. SOC. BIOL. 1949 143 9 10 668-669

128 - VUYSTEKE CA. DE DUVE C.

Le contenu en glycagon du pancréas aviaire.

ARCH. INTERN. PHYSIOL. 1953 61 273-274

129 - WATERMAN AJ.

Development and capacity of transplanted hepatic pancreatic and lung tissues of rabbits embryo.

AMER. J. ANAT. 1936 58 27 57

130 - WEICHSELBAUM KYRLE

Uber das Verhalten des Langerhanschen Inseln des menschlichen Pankreas in foetalen und post foetalen Leben.

ARCH. FUR MIKR ANAT. UND ENTWICKL. 1909 74

131 - WESTMAN J. ANDERSON A. HELLERSTROM C. PETERSSON B.

Ultrastructure of monolayer cultures of pancreatic islets cells.

ACTA DIABET LA. 1970 7 557-589

132 - WILLIS

Pharmaceutica rationalis.

1673

133 - WOLFF E.

La culture d'organes embryonnaires in vitro.

REV. SCIEN. 1952 90 189-197

134 - WOLFF E.

Principes d'une méthode de culture d'organes embryonnaires en milieu synthétique.

C.R. SOC. BIOL. 1953 147 887

135 - WOLFF E. STEFAN DUBOIS F.

La migration des cellules de régénération et les facteurs qui la provoquent chez les triclades.

C.R. ACAD. SCI. FR. 1947 224 1387-1388

136 - WOLTER JR.

Die Langerhanschen Inseln des Pferdes.

LEITSCH. ZELLFORSCH 1950 35 34 220-239

137 - WOODRUFF M F A

The transplantation of homologous tissues and surgical applications.

ANN. ROY. COLL. SURG. ENGL. 1952 11 173-194

138 - ZAGURY D.

Contribution à l'étude morphologique des sécrétions pancréatiques chez le rat.

THESE SCIENCES PARIS 1961

P L A N C H E I

GREFFES DE FRAGMENTS DE PANCREAS ADULTE

Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 40

Un fragment de la queue du pancréas a été prélevé chez un rat de 100 g et implanté sous la capsule rénale de son frère. 12 jours après la mise en place du greffon, la majeure partie du parenchyme glandulaire a disparu et on observe seulement de rares formations tubulaires au sein d'un nodule lympho-histiocytaire volumineux. La présence de cette structure révèle l'intensité de la réaction immunitaire de l'hôte.

Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 40

Une autogreffe de pancréas a été réalisée chez un rat de 60 g : le fragment pancréatique évolue sous la capsule rénale pendant 12 jours. Au terme de l'expérience, il est constitué essentiellement d'acini et de tubes le plus souvent dilatés.

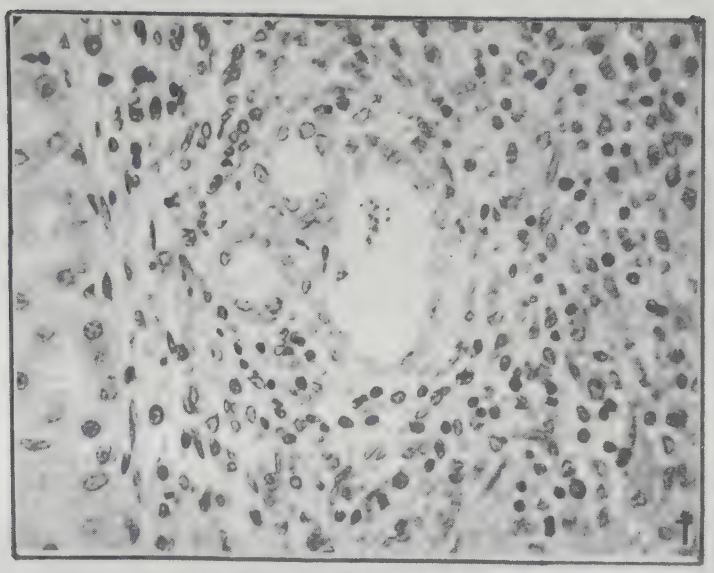
Fig. 3 : G = oc 8 obj. X 100

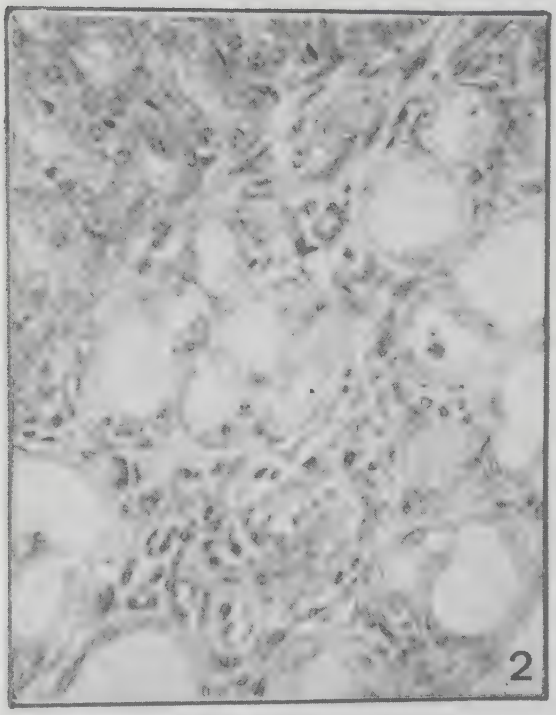
Chez un autre animal, d'un poids de 100 g, la greffe est laissée en place pendant 70 jours : au terme de l'expérience, le greffon pancréatique est pratiquement accolé au parenchyme rénal : il est formé d'acini dilatés et d'un petit nombre d'amas épithéliaux de volume réduit, non colorable par la méthode de Gomori. Malgré l'absence de réactions immunitaires, le parenchyme exocrine tend à involuer et on n'observe pas d'îlôts endocrines néoformés.

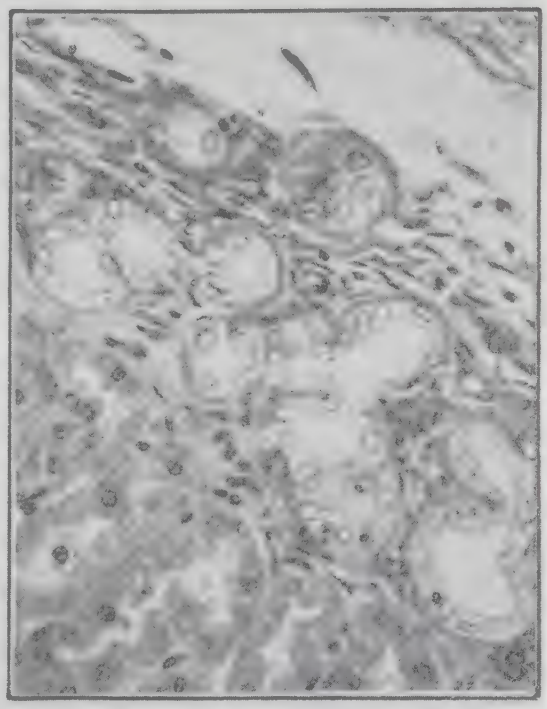
Fig. 4 : G = oc 8 obj. X 40

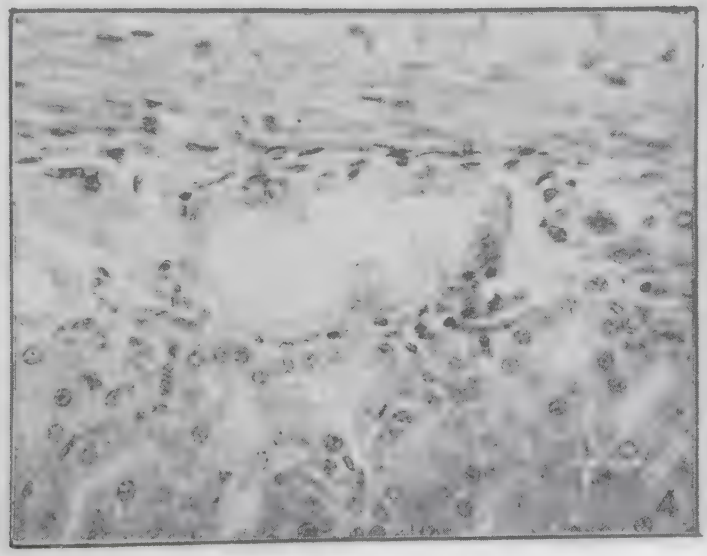
Le greffon était constitué d'une suspension de cellules épithéliales obtenues par la trypsinisation d'un fragment de pancréas prélevé chez l'animal porte greffe lui-même. Au terme de l'expérience, 12 jours après l'opération, le greffon est petit ; il est constitué de tubes irrégulièrement dilatés qui semblent résulter d'une réassociation des cellules glandulaires trypsinisées. Ce greffon, dépourvu d'îlôts endocrines, est directement en contact avec le parenchyme rénal, dans la corticale duquel il tend à s'encastrer.

PLANCHE I









P L A N C H E II

AUTOGREFFE DE PANCREAS

ACTION DE L'HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE

Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 20

Un fragment de la queue du pancréas est prélevé chez un rat de 110 g et implanté sous la capsule du rein. A partir du jour de la greffe, les animaux reçoivent exclusivement comme boisson une solution aqueuse de glucose à 30 % (chaque animal a consommé en moyenne 50 ml pour 24 heures). Au terme de l'expérience, les greffons sont volumineux, constitués d'acini et de tubes dilatés parmi lesquels on observe des îlôts endocrines.

Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 40

Détail de la même préparation. Dans la paroi des tubes et dans les zones épithéliales juxta-tubulaires, on observe des cellules en mitose.

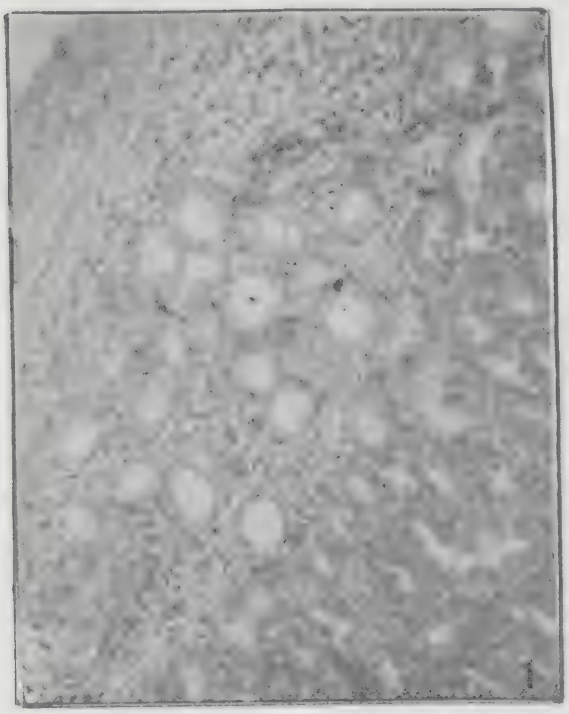
Fig. 3 : G = oc 8 obj. X 40

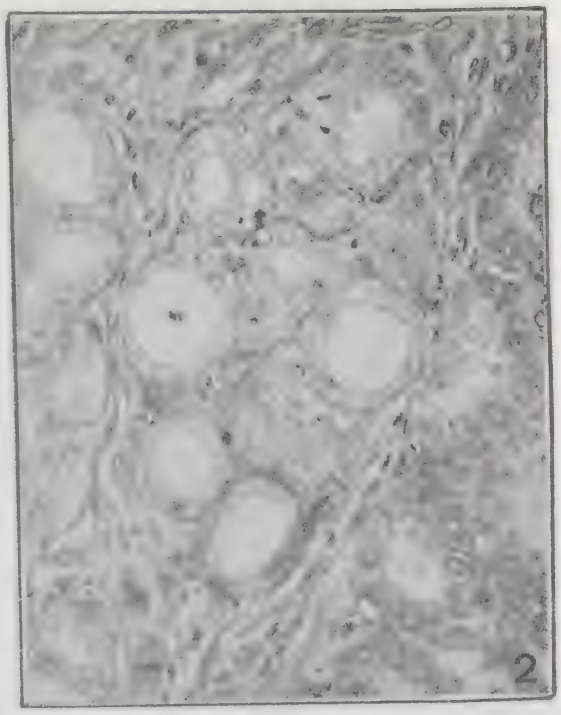
L'îlôt endocrine, très dense, est constitué de cellules volumineuses, basophiles intensément colorables par la méthode de Gomori.

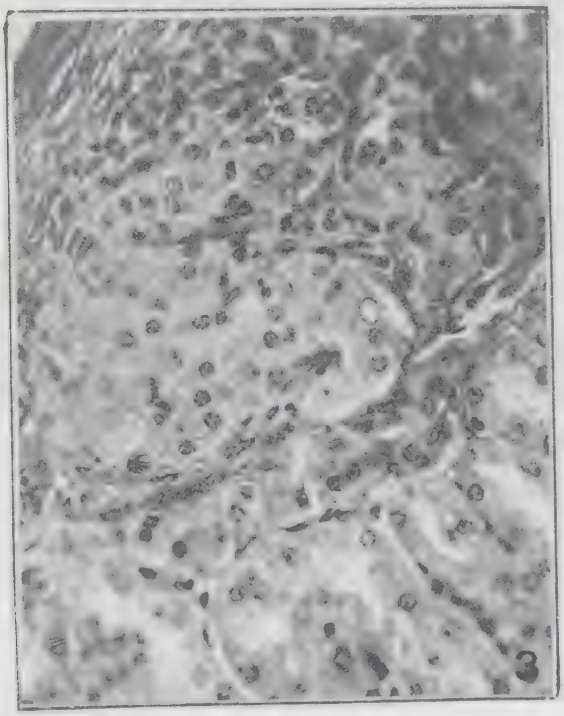
Fig. 4 : G = oc 8 obj. X 100

La présence de mitoses, dans la paroi des tubes, suggère que le régime hyperglycémiant stimule les cellules pancréatiques transplantées. Ces phénomènes de prolifération sont les seuls qui, au cours de nos expériences, permettent d'envisager que les structures endocrines peuvent naître des tubes excréteurs - selon LAGUESSE et surtout ARON.

PLANCHE II







P L A N C H E III

HOMOGREFFE DE PANCREAS FOETAL CHEZ L'ANIMAL ADULTE

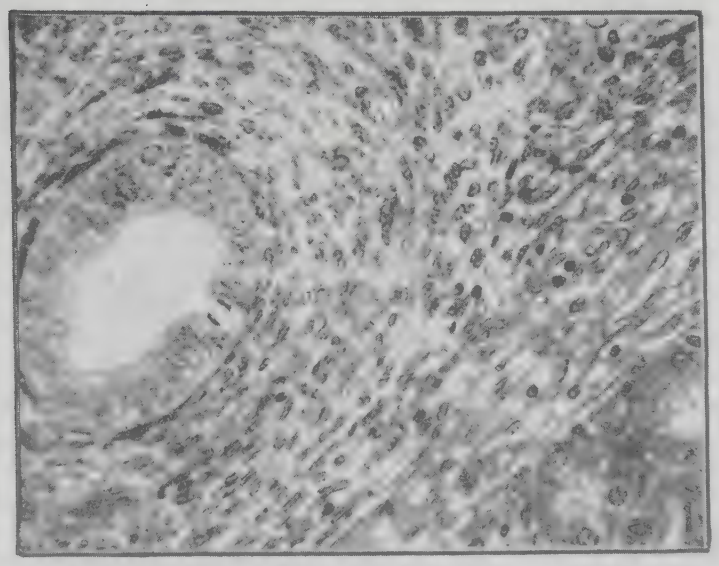
Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 40

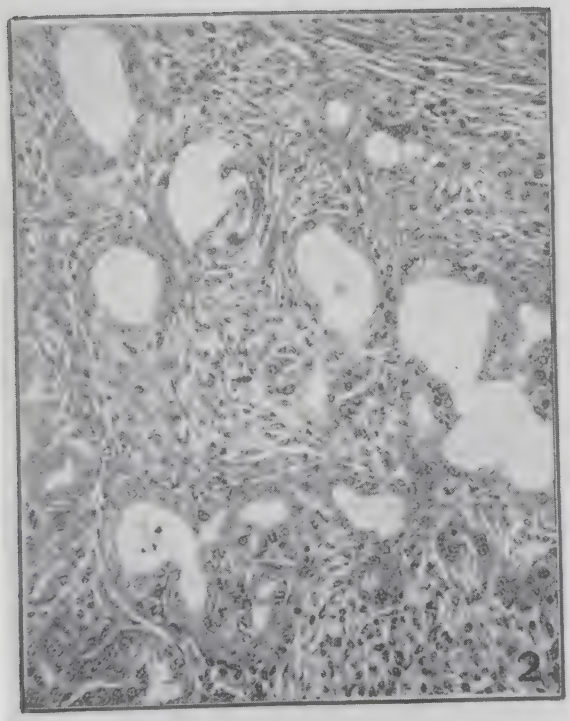
L'ébauche pancréatique prélevée chez un foetus au 16ème jour de la grossesse, datée par constatation du "bouchon vaginal", est implantée sous la capsule du rein d'un rat adulte de la même souche. Au terme de l'expérience -7 jours après la mise en place de la greffe- le parenchyme pancréatique est réduit à des tubes dilatés. Leur paroi est parfois mince, parfois stratifiée ou pseudo-stratifiée : elle contient alors des cellules en mitose (chez certains animaux, on observe également des structures acineuses). La réaction conjonctive de l'hôte est importante.

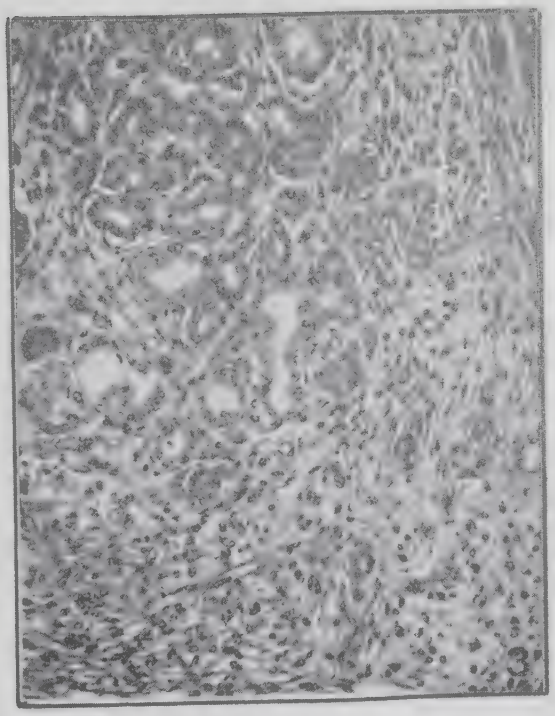
Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 20

L'ébauche pancréatique a été prélevée chez un foetus de 17 jours. Au terme de l'expérience -7 jours après la greffe sous la capsule rénale- on observe un greffon multinodulaire très riche en éléments conjonctifs. Les nodules sont tantôt constitués de tubes dilatés au contact desquels on observe des amas épithéliaux peu différenciés, tantôt d'acini d'aspect souvent ouvert (fig. 3).

PLANCHE III







P L A N C H E IV

HOMOGREFFES DE PANCREAS FOETAL

(Evolution en fonction de la durée de la greffe et de l'âge de l'ébauche greffée)

Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 20

Greffon pancréatique prélevé au 17ème jour de la grossesse ayant évolué pendant 14 jours sous la capsule du rein d'un rat adulte. Présence de tubes dilatés au contact étroit desquels on observe des îlôts endocrines volumineux identiques à ceux du pancréas en place.

Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 20

Au sein du même greffon, on observe des amas d'acini d'aspect dense, en contact avec des tubes excréteurs mais sans rapport avec des îlôts endocrines.

Une telle image confirme l'observation de la planche II qui suggère l'origine tubulaire des îlôts néoformés.

Fig. 3 : G = oc 8 obj. X 100

Détail de l'îlôt endocrine et de sa vascularisation.

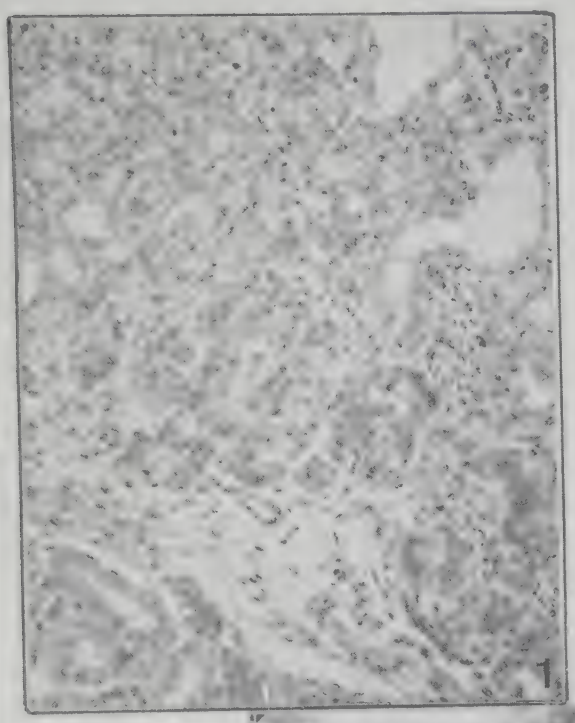
Fig. 4 : G = oc 8 obj. X 20

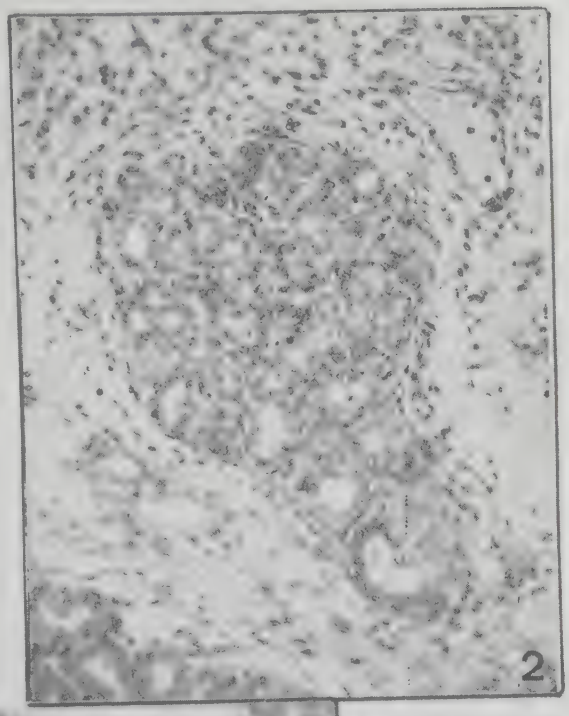
Lorsque l'ébauche prélevée au 17ème jour de la grossesse évolue pendant 21 jours sous la capsule rénale, elle déclenche une réaction immunitaire de l'hôte -de type lympho-histiocytaire et fibrocytaire- Le greffon est pratiquement détruit au terme de l'expérience.

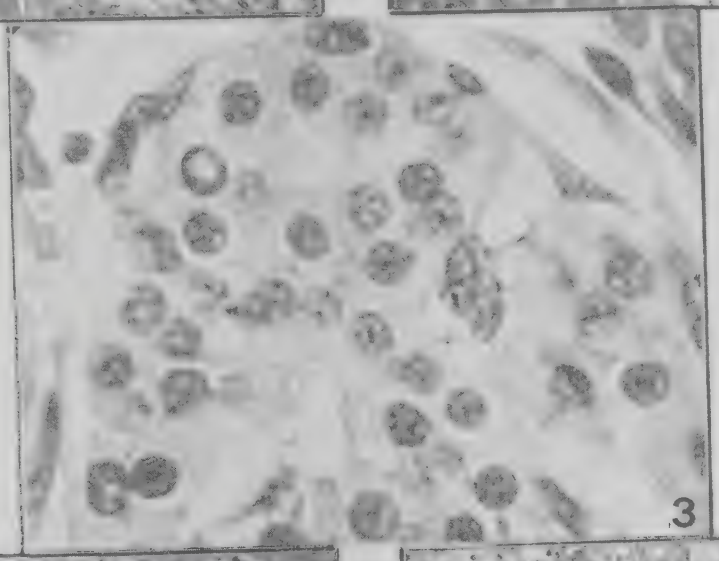
Fig. 5 : G = oc 8 obj. X 20

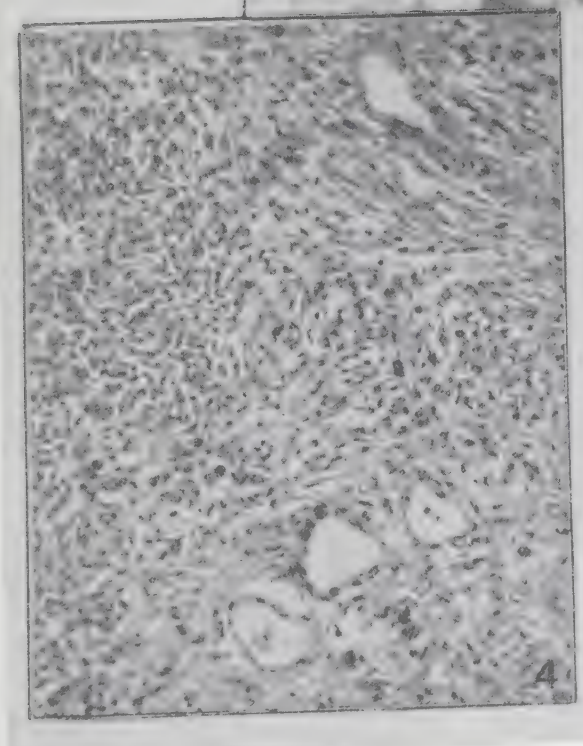
L'ébauche pancréatique a été prélevée au 19ème jour de la grossesse. 14 jours après la mise en place du greffon, le parenchyme glandulaire involue : la réaction immunitaire de l'hôte est aussi intense qu'après 21 jours d'expérience pour un greffon plus jeune. Les greffes sont d'autant plus antigéniques qu'elles sont constituées de parenchyme plus différencié.

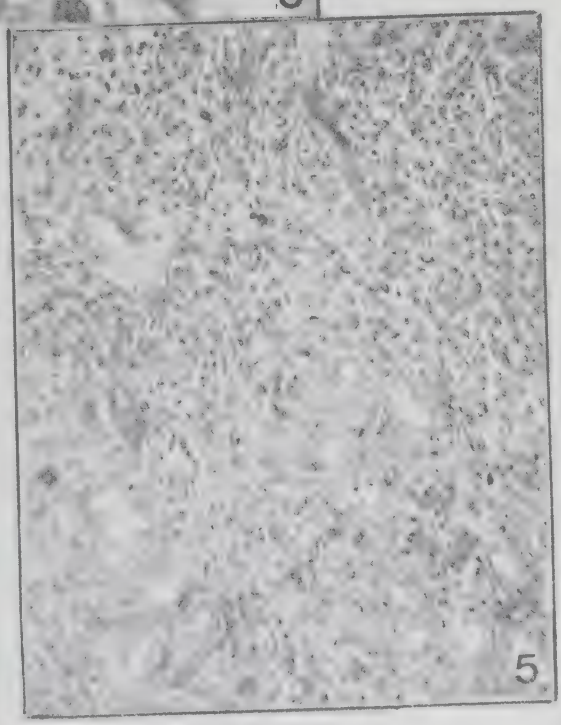
PLANCHE IV











P L A N C H E V

HOMOGREFFES DE CULTURES ORGANOTYPIQUES DE PANCREAS FOETAL

Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 10

Le greffon pancréatique, implanté sous la capsule rénale, est constitué par une ébauche cultivée pendant 5 jours sur milieu artificiel. L'expérience a duré 70 jours au terme desquels la parenchyme glandulaire, constitué d'acini, de tubes et d'îlôts endocrines, ne présente pas de signes d'involution. L'organisme de l'hôte tolère bien le greffon qui est partiellement en contact avec le parenchyme du rein. Le passage en culture semble diminuer l'antigénicité du greffon.

Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 50

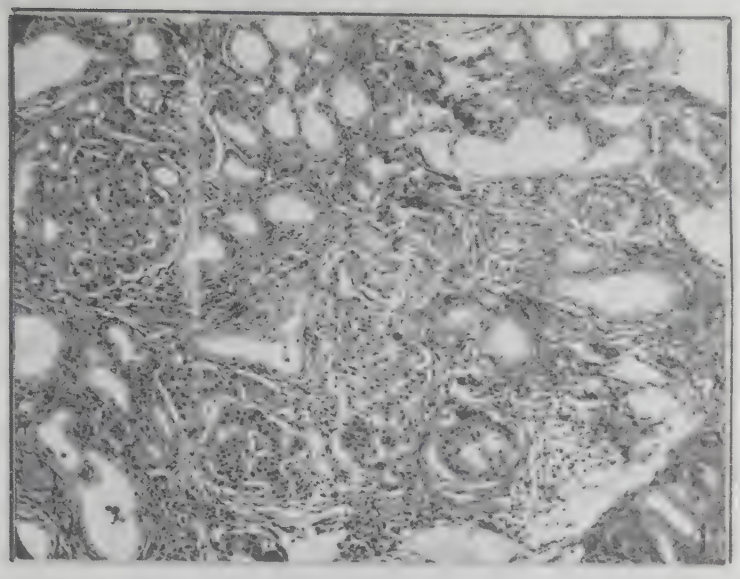
Aspect d'un îlôt endocrine dont la périphérie est très riche en cellules colorables par la technique de Gomori. Ces structures sont au contact d'un tube excréteur.

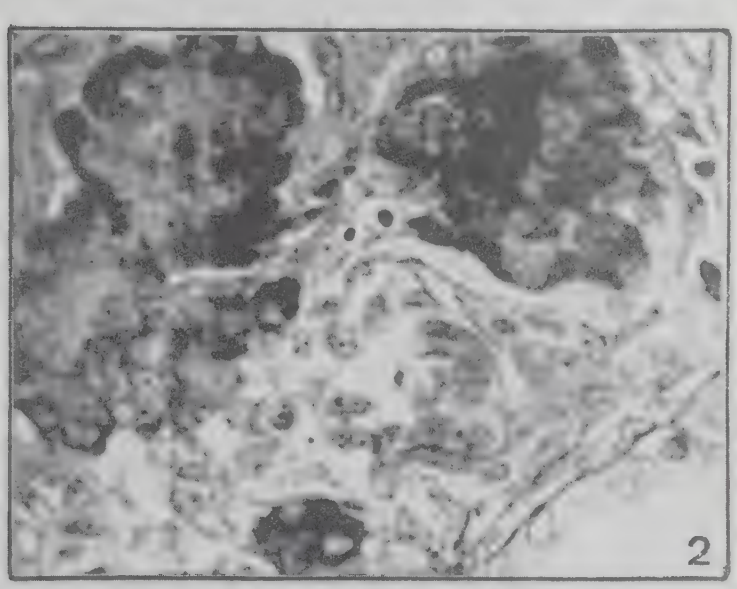
Fig. 3 : G = oc 8 obj. X 100

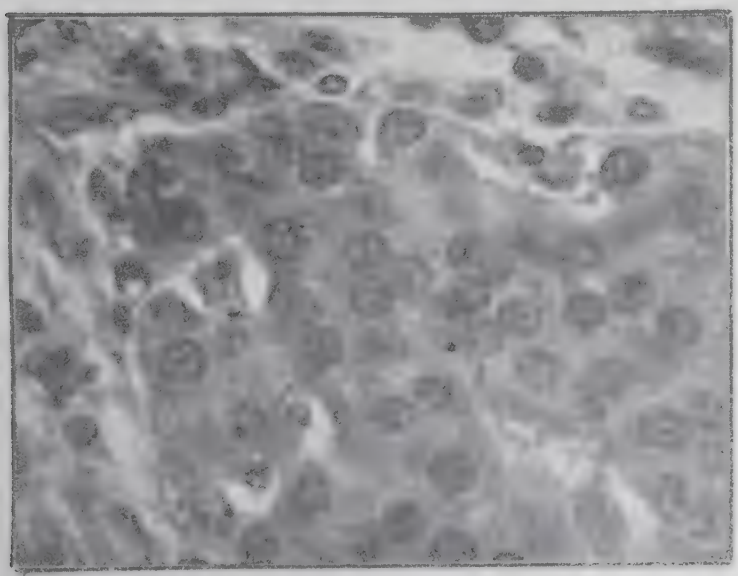
Détail du même îlôt et de sa vascularisation.

Ce sont de telles structures qui sont fonctionnelles au 100ème jour de l'expérience et capables de régler la glycémie chez les animaux pancréatectomisés.

PLANCHE V







P L A N C H E VI

CULTURE DE PANCREAS FOETAL SUR MILIEU ARTIFICIEL

Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 20

Ebauche pancréatique prélevée au 17ème jour de la grossesse : à ce stade, dans un stroma conjonctif peu dense, on observe des tubes ramifiés, des ébauches d'acini et de petits amas épithéliaux indifférenciés.

Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 20

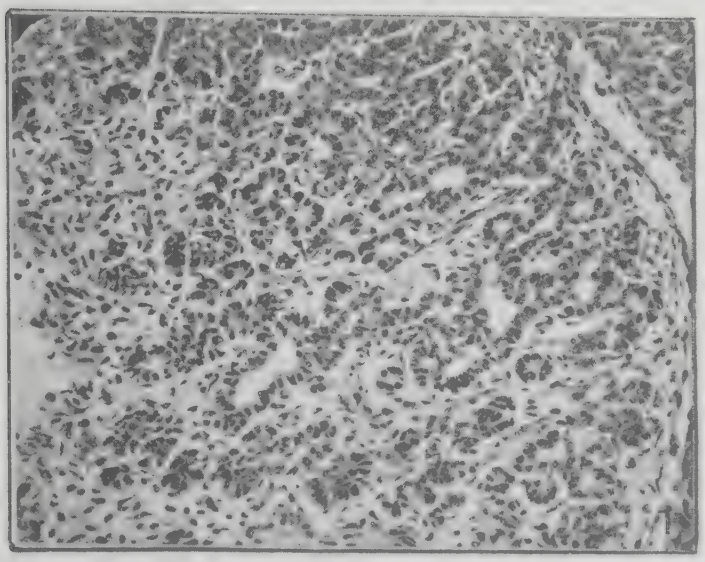
Ebauche pancréatique prélevée le 17ème jour de la grossesse et cultivée pendant 5 jours sur milieu gélosé de TROWELL. L'explant est bien limité par un revêtement endothéliforme. Il est essentiellement épithélial et formé d'acini et de tubes irrégulièrement dilatés : pas de constitutions d'îlôts endocrines (ce sont de tels explants qui ont été greffés).

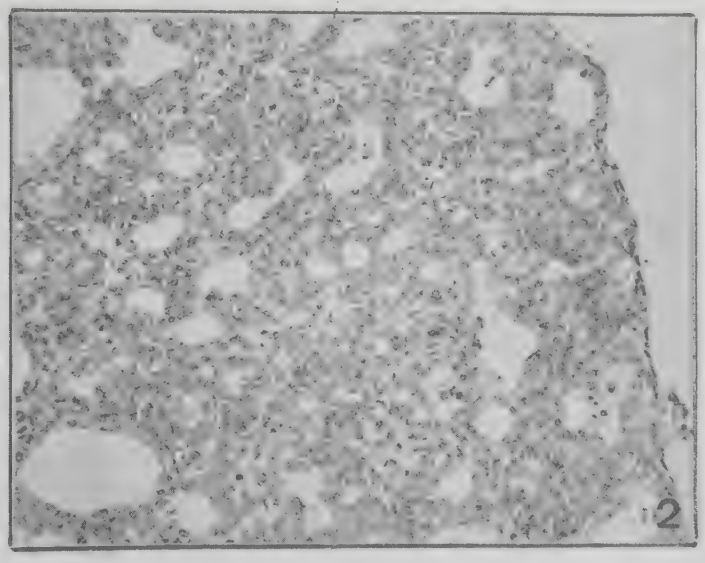
Fig. 3 : G = oc 8 obj. X 20

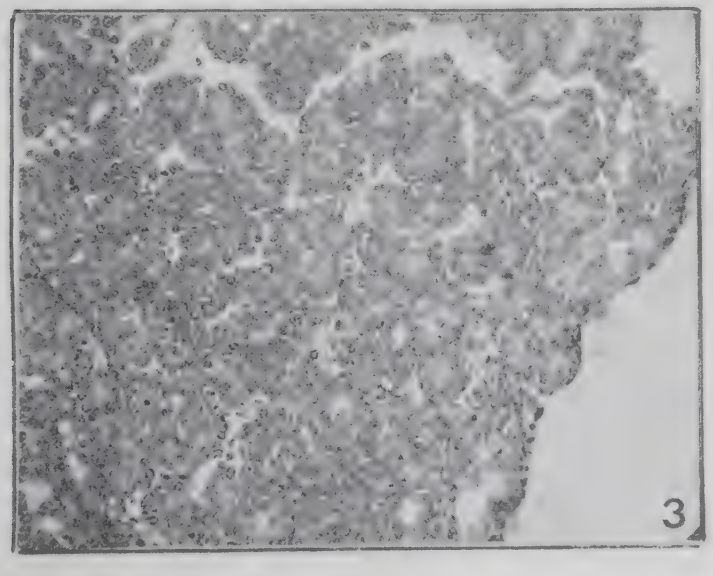
Lorsque l'ébauche est cultivée sur milieu Cu de WOLFF, elle a un aspect dense : elle est riche en mitoses ; les structures acineuses sont denses. Il n'apparaît pas d'îlôts épithéliaux de type endocrine.

Ces cultures sur milieux artificiels présentent des signes discrets d'involution à partir du 8ème jour de l'expérience.

PLANCHE VI







P L A N C H E VII

CULTURES ORGANOTYPIQUES DE PANCREAS FOETAL

SUR MILIEU NATUREL

Fig. 1 : G = oc 8 obj. X 20

L'ébauche pancréatique prélevée au 17ème jour de la grossesse a été cultivée pendant 8 jours. Au terme de l'expérience, l'explant est bien limité par une structure endothéliforme. Dans un stroma conjonctif oedématié, on observe des acini et des tubes d'aspect kystique. Pas de signes d'insulogénèse.

Fig. 2 : G = oc 8 obj. X 20

L'ébauche pancréatique a été cultivée pendant 8 jours sur un milieu gélosé contenant du plasma homologue et du milieu C. L'explant est très dense pratiquement dépourvu de cellules en mitose et constitué par des acini fermés et des amas épithéliaux indifférenciés.

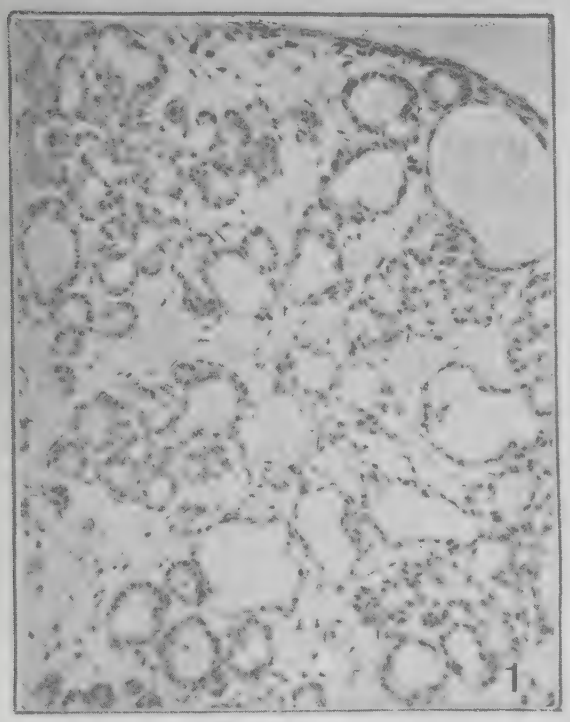
Fig. 3 : G = oc 8 obj. X 10

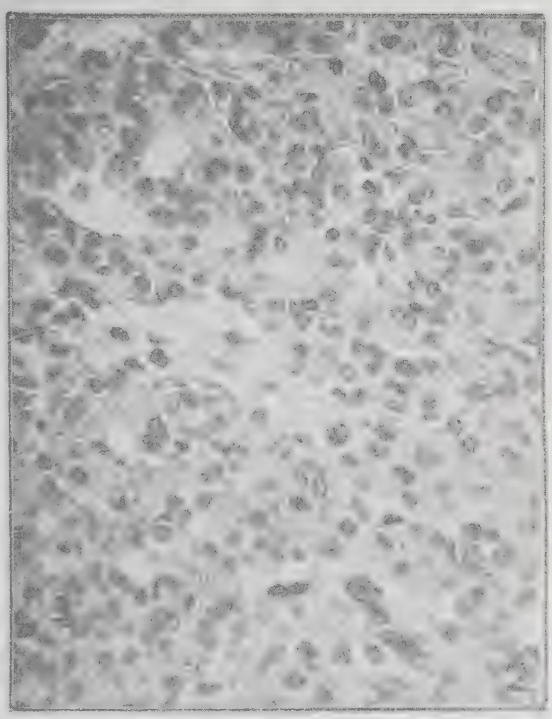
Ebauche pancréatique cultivée sur un milieu gélosé contenant du sérum et du milieu C de WOLFF. Les explants bien délimités par une structure épithéliale parfois stratifiée présentent une zone centrale mésenchymateuse oedématiée. Autour de cette zone, se disposent des structures de type endocrine. La zone corticale de l'explant est formée d'acini.

Fig. 4 : G = oc 8 obj. X 20

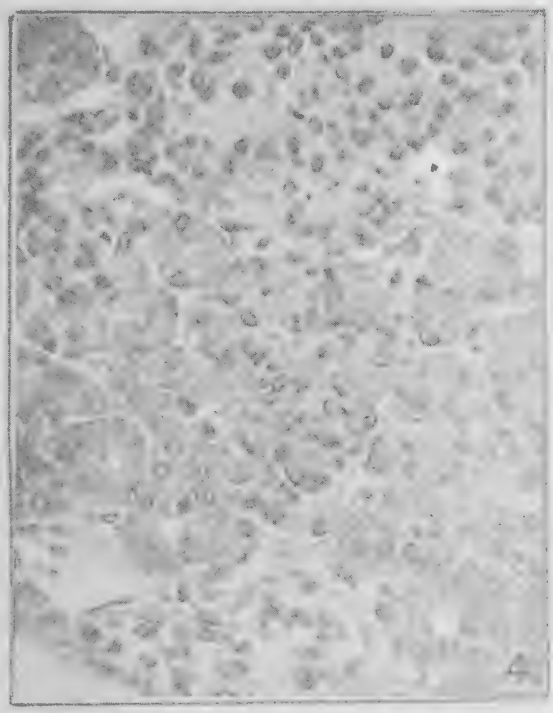
Détail de la figure précédente : acini et amas épithéliaux de type endocrine.

PLANCHE VII


1.


2.

3


4

P L A N C H E VIII

Courbe 1 : glycémie : animaux témoins

Courbe 2 : glycémie : hyperglycémie provoquée chez des rats non traités

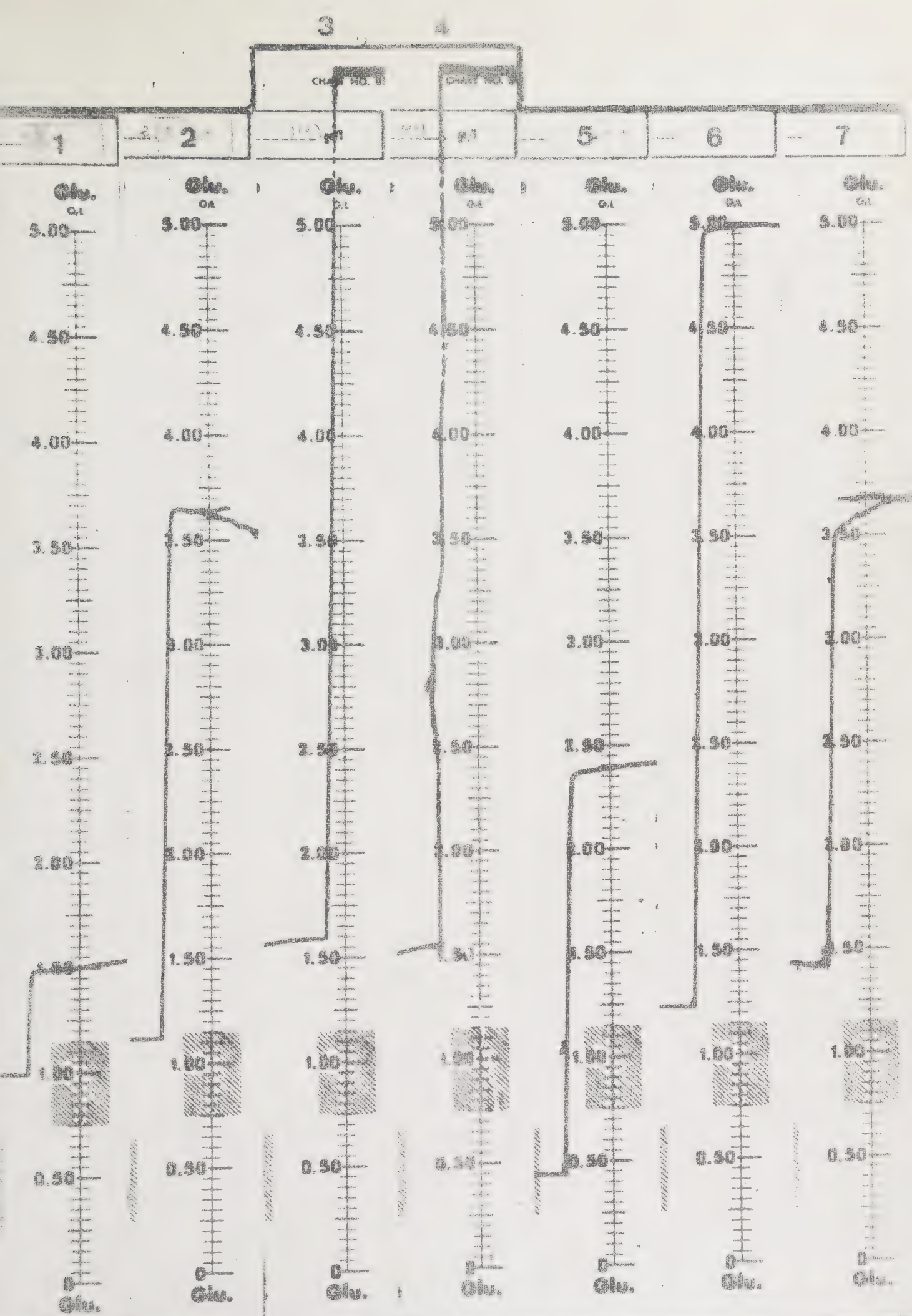
Courbe 3 : glycémie : hyperglycémie provoquée après pancréatectomie

Courbe 4 : ( ) glycémie : hyperglycémie provoquée dans le cas d'une greffe fibreuse

Courbe 5 : ( ) dilution au 1/3

Courbe 6 : ( ) glycémie : hyperglycémie provoquée chez des animaux porteurs d'un greffon morphologiquement actif

Courbe 7 : ( )


3
4
1
2
5
6
7
Glu.
5.00
4.50
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0

Vu et permis d'imprimer :

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX I,

Vu et permis d'imprimer :

LE CHANCELIER DE L'ACADEMIE DE BORDEAUX